

Aus der Milchabteilung
des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes Aulendorf
Amtsvorstand: Prof. Dr. K. Dedié
und der Abteilung Hygiene der Milch, Fische und Eier
am Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Universität Gießen
Vorsteher: Prof. Dr. G. Kielwein

**Untersuchungen über das Vorkommen von
Pseudomonaden und Aeromonaden
in Molkereten**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Dieter Schäfer
Tierarzt aus Düsseldorf

Gießen 1972

Aus der Milchabteilung
des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes Aulendorf
Amtsvorstand: Prof. Dr. K. Dedié
und der Abteilung Hygiene der Milch, Fische und Eier
am Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde
der Justus Liebig-Universität Gießen
Vorsteher: Prof. Dr. G. Kielwein

**Untersuchungen über das Vorkommen von
Pseudomonaden und Aeromonaden
in Molkereien**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Dieter Schäfer
Tierarzt aus Düsseldorf

Gießen 1972

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinär-
medizin der Justus-Liebig-Universität in Gießen

Dekan:

Prof. Dr. G. Lämmler

Berichterstatter:

Prof. Dr. G. Kielwein

Tag der mündlichen Prüfung: 7. Juli 1972



Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.1	Einleitung	1
1.2	Einleitung	2
1.3	Einleitung	3
1.4	Einleitung	4
1.5	Einleitung	5
1.6	Einleitung	6
1.7	Einleitung	7
1.8	Einleitung	8
1.9	Einleitung	9
1.10	Einleitung	10
1.11	Einleitung	11
1.12	Einleitung	12
1.13	Einleitung	13
1.14	Einleitung	14
1.15	Einleitung	15
1.16	Einleitung	16
1.17	Einleitung	17
1.18	Einleitung	18
1.19	Einleitung	19
1.20	Einleitung	20
1.21	Einleitung	21
1.22	Einleitung	22
1.23	Einleitung	23
1.24	Einleitung	24
1.25	Einleitung	25
1.26	Einleitung	26
1.27	Einleitung	27
1.28	Einleitung	28
1.29	Einleitung	29
1.30	Einleitung	30
1.31	Einleitung	31
1.32	Einleitung	32
1.33	Einleitung	33
1.34	Einleitung	34
1.35	Einleitung	35
1.36	Einleitung	36
1.37	Einleitung	37
1.38	Einleitung	38
1.39	Einleitung	39
1.40	Einleitung	40
1.41	Einleitung	41
1.42	Einleitung	42
1.43	Einleitung	43
1.44	Einleitung	44
1.45	Einleitung	45
1.46	Einleitung	46
1.47	Einleitung	47
1.48	Einleitung	48
1.49	Einleitung	49
1.50	Einleitung	50
1.51	Einleitung	51
1.52	Einleitung	52
1.53	Einleitung	53
1.54	Einleitung	54
1.55	Einleitung	55
1.56	Einleitung	56
1.57	Einleitung	57
1.58	Einleitung	58
1.59	Einleitung	59
1.60	Einleitung	60
1.61	Einleitung	61
1.62	Einleitung	62
1.63	Einleitung	63
1.64	Einleitung	64
1.65	Einleitung	65
1.66	Einleitung	66
1.67	Einleitung	67
1.68	Einleitung	68
1.69	Einleitung	69
1.70	Einleitung	70
1.71	Einleitung	71
1.72	Einleitung	72
1.73	Einleitung	73
1.74	Einleitung	74
1.75	Einleitung	75
1.76	Einleitung	76
1.77	Einleitung	77
1.78	Einleitung	78
1.79	Einleitung	79
1.80	Einleitung	80
1.81	Einleitung	81
1.82	Einleitung	82
1.83	Einleitung	83
1.84	Einleitung	84
1.85	Einleitung	85
1.86	Einleitung	86
1.87	Einleitung	87
1.88	Einleitung	88
1.89	Einleitung	89
1.90	Einleitung	90
1.91	Einleitung	91
1.92	Einleitung	92
1.93	Einleitung	93
1.94	Einleitung	94
1.95	Einleitung	95
1.96	Einleitung	96
1.97	Einleitung	97
1.98	Einleitung	98
1.99	Einleitung	99
1.100	Einleitung	100

Meinen lieben Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1.0 Einleitung	1
2.0 Literaturübersicht	2
2.1 Allgemeines zum Genus Pseudomonas und Aeromonas	2
2.11 Das Genus Pseudomonas	2
2.12 Das Genus Aeromonas	6
2.2 Die Charakterisierung und Differenzierung von Pseudomonaden und Aeromonaden	7
2.21 Die Charakterisierung und Differenzierung von Pseudomonaden	7
2.22 Die Charakterisierung und Differenzierung von Aeromonaden	13
Eigene Untersuchungen	16
3.0 Material und Methoden	16
3.1 Material	16
3.11 Untersuchungsmaterial und Kulturen	16
3.12 Nährböden und Reagenzien	16
3.2 Methoden	17
3.21 Die Probenentnahme	17
3.22 Die bakteriologische Untersuchung	19
3.221 Die Isolierung und Differenzierung von Pseudomonaden	19
3.222 Die Isolierung und Differenzierung von Aeromonaden	21
4.0 Ergebnisse	22
4.1 Die Kontamination mit Pseudomonaden und Aeromonaden	22
4.11 Rohmilch und pasteurisierte Trinkmilch	22
4.12 Rohrahm und Schlagsahne	22
4.13 Rohrahm und Butter	25
4.14 Brauchwasser	25
4.15 Luft	25
4.16 Fußböden und Wände	28
4.2 Die Differenzierung der gramnegativen Kulturen	28
4.21 Die Gesamtzahlen der einzelnen Spezies	28

	Seite
4.22 Rohmilch und pasteurisierte Trinkmilch	28
4.23 Rohrahm und Schlagsahne	31
4.24 Rohrahm und Butter	31
4.25 Brauchwasser	31
4.26 Luft	36
4.27 Fußböden und Wände	36
4.3 Häufigkeitsverteilung der identifizierten Kul- turen	36
4.4 Mögliche Kontaminationsquellen	46
4.5 Besprechung der Ergebnisse	48
4.51 Allgemeines	48
4.52 Die Kontamination mit Pseudomonaden und Aero- monaden	48
4.53 Die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Spezies	50
4.54 Schlußbetrachtung	51
5.0 Zusammenfassung	54
6.0 Summary	55
7.0 Literaturverzeichnis	56
Lebenslauf	63

1.0 Einleitung

Durch die fortschreitende Intensivierung, Rationalisierung und Mechanisierung der Milchgewinnung, Milchverarbeitung und Milchvermarktung gewinnt zwangsläufig die Lebensmittelhygiene auf diesem Gebiet an Bedeutung. Während die Keimflora der handermolkernen Milch überwiegend aus grampositiven, milchsäurebildenden Bakterien (Streptokokken, Laktobazillen) besteht, ist mit dem vermehrten Einsatz von Melkmaschinen eine Verschiebung der Keimflora der Milch in Richtung auf eine gramnegative Schmutzflora zu beobachten, wobei, auch durch zunehmende Tiefkühlung bedingt, immer häufiger psychrotrophe, nicht zu den Enterobacteriaceae gehörige Keime im Vordergrund stehen. Die überwiegende Zahl dieser Keime gehört, wie von KIELWEIN³⁰ dargestellt werden konnte, zur Familie der Pseudomonadaceae.

Die Pseudomonaden und Aeromonaden, ursprünglich Wasser- und Bodenkeime, sind ein hervorragender Indikator für die hygienischen Umstände bei der Milchgewinnung, aber auch der Milchverarbeitung. Ihre besondere milchhygienische Bedeutung liegt in ihrer auch bei niederen Temperaturen möglichen Stoffwechselaktivität sowie in ihrem Vermögen, Fette und Eiweiße zu spalten.

Durch die vorliegende Arbeit sollte geklärt werden:

1. In welchem Umfange ist mit dem Vorkommen von Pseudomonaden und Aeromonaden in Molkereien zu rechnen, die Trinkmilch, Schlagsahne und Butter herstellen?
2. Welche Bedeutung kommt dem Überleben von Pseudomonaden und Aeromonaden bei der Pasteurisierung zu?
3. Welche Möglichkeiten einer Rekontamination der pasteurisierten Milch und des Rahmes mit Pseudomonaden und Aeromonaden sind unter besonderer Beachtung der Umweltfaktoren Wasser, Luft, Fußböden und Wände gegeben?

2.0 L i t e r a t u r ü b e r s i c h t

2.1 Allgemeines zum Genus Pseudomonas und Aeromonas

2.11 Das Genus Pseudomonas

HAYNES und BURKHOLDER (Bergey's Manual) ⁵ charakterisieren die Gattung Pseudomonas wie folgt:

"Pseudomonaden sind entweder monotrich oder lophotrich begeißelt oder sie sind unbewegliche, gramnegative Bakterien. Sie bilden häufig ein diffusibles, fluoreszierendes Pigment von grüner, blauer, violetter, lila, rosa, gelber oder anderer Farbe. Die meisten Arten oxydieren Glukose zu 2-Ketoglukonsäure oder zu Intermediärprodukten, Laktose wird im allgemeinen nicht oxydiert. Nitrat wird häufig zu Nitrit, Ammoniak oder zu Stickstoff reduziert. Einige Arten spalten Fett und/oder Kohlenhydrate. Die Trennungslinie zwischen den geraden Pseudomonasstäbchen und den gebogenen Vibrionen ist nicht scharf. Gelegentlich können gebogene Stäbchen bei einzelnen Spezies auftreten. Die Trennung ist durch Anwendung von Antibiotika und Vibriostatika möglich ..." Insgesamt sind 149 Spezies aufgeführt, die nach Fundort, Vorkommen, Pathogenität, biologischen und biochemischen Merkmalen eingeteilt werden.

Weitere Beschreibungen und Definitionen geben KRASSILNIKOV ³⁷, LYSENKO ⁴⁰, BEER ⁴, STANIER und Mitarbeiter ⁶¹ sowie KIELWEIN ³⁰. Während KRASSILNIKOV ³⁷, der über 200 Arten beschreibt, besonders darauf hinweist, daß es sich um nicht sporenbildende, polar begeißelte Stäbchen handelt, stellen LYSENKO ⁴⁰, BEER ⁴ sowie STANIER und Mitarbeiter ⁶¹ besonders die oxydative Glukosespaltung heraus. KIELWEIN ³⁰ definiert die Pseudomonaden wie folgt:

"Pseudomonaden sind gramnegative, in der Regel bewegliche Stäbchen, die polar begeißelt sind. Die Cytochromoxydasereaktion ist meist positiv. Aerobes Wachstum im HUGH-LEIFSON-Medium. Glukose und/oder Propanol werden unter Säurebildung gespalten. Aus Aethanol, Glycerin und Xylose wird von der Mehrzahl der Arten oxydativ Säure gebildet. Dulcitol und Inulin werden nicht gespalten, Na-Oxalat und Na-Ascorbat in der Regel nicht als einzige Kohlenstoffquelle ausgewertet. Ammonium-Citrat, Natrium-Succinat und Natrium-Laktat werden von den meisten Arten als einzige Kohlenstoffquelle verwertet. Glutaminsäure kann von den meisten Arten als einzige Kohlenstoff- und Stickstoffquelle ausgewertet werden, während L(+)-Cystin und L(-)-Methionin in der Regel nicht verwertet werden. KNO_3 wird zu NH_3 abgebaut. Die meisten Stämme sind gegen 100 IE Penicillin je ml Nährboden resistent".

PARK ⁴⁸ ist der Meinung, zur Klassifizierung des Genus Pseudomonas sei ausreichend, wenn polar begeißelte gramnegative Stäbchen Kohlenhydrate oxydieren und/oder fluoreszierende Stoffe bilden.

SCHUBERT ⁵⁴ unterscheidet bei der Differenzierung von aus Wasser gezüchteten Bakterien der Familien Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae und Achromobacteriaceae nach der Cytochromoxydasereaktion sowie der Art des Glukoseabbaus.

KIELWEIN ³¹ fand unter ca. 2 000 identifizierter und über Glutaminat-Stärke-Phenolrot-Medium (GSP) isolierter Kulturen, daß für die Diagnosestellung "Pseudomonas" entweder Glukose, Propanol oder Butanol oxydativ gespalten werden muß. Die Cytochromoxydasereaktion kann dabei sowohl positiv als auch negativ ausfallen. Von allen durch KIELWEIN ³¹ identifizierten Pseudomonaskulturen war bisher keine, die weder Glukose, noch Propanol oder Butanol oxydativ zu spalten vermochte.

Die Hauptfundorte der Pseudomonaden sind nach BERGEY'S MANUAL ⁵ der Boden, das Meerwasser und verunreinigtes Süßwasser sowie Pflanzen und Tiere. Auch KLINGE ³⁴ bezeichnet die Pseudomonaden als Wasser- und Bodenkeime. Nach THOMAS ⁶³ gehören die Pseudomonaden zur Normalflora von Wasser. DEUFEL ¹² isolierte Pseudomonaden aus Wasserproben des Bodensees, wobei er die zahlenmäßig höchsten Ergebnisse an Flußmündungen und Abwassereinführungen erzielte.

Zahlreiche Literaturangaben finden sich über Pseudomonadenvorkommen in Wasserversorgungen. So fand BEYTHIEN ⁶ in Wasserproben aus öffentlichen und nichtöffentlichen Wasserversorgungen Pseudomonaden. Nach KNORR, HAAS und KNORR ³⁵ muß in Trinkwasser immer mit Pseudomonaden gerechnet werden. Auch NIKODEMUSZ ⁴⁴, KUNDRAT ³⁸, CASELITZ ⁹, KURZWEIL ³⁹, GRÜN ¹⁶, THÖRNE ⁶², HUNTER und ENSIGN ²⁴, RADAELLI und E PERINI ⁵⁰, HAAGSMA und PEEREBOOM ¹⁷, ROSTAD ⁵² und MC DONALD, ROBERT und PINHEIRO ⁴² berichteten über Pseudomonaden in Trinkwasser.

CORLEY, LONG und HAMMER ¹⁰ wiesen in Brauchwasserproben aus Butterwerken, BARTELS ³ im Kreislaufwasser eines Hüttenwerkes, JEZESKI und MACY ²⁶ wiederum im Brauchwasser von Butterwerken und THOMAS ⁶³ im Brauchwasser von Rahmstationen Pseudomonaden nach.

Über die Kontamination von Rohmilch und Milchprodukten mit Pseudomonaden liegen zahlreiche Angaben vor. Nach WITTER ⁶⁸ ist Wasser die ursprüngliche Quelle, die bedeutungsvollere Kontaminationsquelle jedoch nach WITTER ⁶⁸ und THOMAS ⁶⁵ ist in ungenügend gereinigten milchwirtschaftlichen Geräten zu suchen. So werden von zahlreichen Autoren ^{38, 2, 41, 27, 15, 51, 64} Milchleitungen, Milchkannen, Butterfässer, Milchtanks, Rahmpumpen und Melkmaschinen angeführt. Nach OGAWA ⁴⁵ besteht die Keimflora in Melkmaschinen vornehmlich aus

Pseudomonaden. Auch KIELWEIN ²⁷ und BEYTHIEN ⁶ konnten diese Angaben bestätigen.

KIELWEIN ²⁷ fand in 68,4 % von ihm untersuchter Rohmilchproben Pseudomonaden und in 6,7 % der Proben Ps.aeruginosa. GRÜN ¹⁶ wies in 86,2 % der von ihm überprüften Rohmilchproben Ps.aeruginosa nach. TILL ⁶⁷ wies in 66,9 % von 1976 Rohmilchproben Pseudomonaden nach, davon 10,32 % Ps.aeruginosa. ALBRECHT ¹ bewertet die Luft im Milcherzeugerbetrieb, speziell im Milchviehstall und in den Milchkammern als wesentliche Kontaminationsquelle.

Zahlreiche Literaturhinweise weisen auf ein häufiges Auftreten von Pseudomonaden in Trinkmilch und Milchprodukten hin. Nach THOMAS ⁶⁵ erfolgt die Kontamination der pasteurisierten Milch erst nach der Pasteurisierung. Als Hauptkontaminationsquellen sieht er die Abfüllvorrichtungen und die Milchflaschen an. THOMÉ und LJUNGGREN ⁶⁶ berichten, daß Flaschenmilch immer mit psychrotrophen Keimen kontaminiert war, obwohl die Pasteurisierung alle psychrotrophen Keime abgetötet hatte. Auch SCHULTZE und OLSEN ⁵⁸ isolierten aus abgepackter Milch, aus Rahm, Schokoladentrunk und Cottage-Cheese psychrotrophe Keime, wovon etwa die Hälfte den Pseudomonaden zuzurechnen war. Die Mehrzahl der von HIGOSHI ²² aus pasteurisierter Trinkmilch gezüchteten Kulturen konnten den Pseudomonaden zugeordnet werden. HAMOMOTO ¹⁹, HAMOMOTO und KANAUCHI ²⁰, ²¹ und OGAWA und Mitarbeiter ⁴⁶, ⁴⁷ konnten zeigen, daß vor allem die Abfüllanlagen für Trinkmilch und Milchprodukte eine wesentliche Kontaminationsquelle für Pseudomonaden und sonstige psychrotrophe Keime darstellen. Weitere Literaturberichte über das Vorkommen von Pseudomonaden in Trinkmilch und Milchprodukten beziehen sich vor allem auf Rahm, Butter und Cottage-Cheese ²⁶, ⁵⁸, ⁶⁸. KIELWEIN ²⁷ fand in 23,9 % der von

ihm untersuchten Trinkmilchproben über 100 Pseudomonaden/ml, wobei die in Molkereien entnommenen Proben zu 13,0 %, die in Milchgeschäften entnommenen Proben offener Trinkmilch hingegen zu 46,0 % kontaminiert waren.

2.12 Das Genus Aeromonas

In BERGEY'S MANUAL ⁵ werden 4 Spezies von Aeromonas aufgeführt:

Aeromonas liquefaciens

Aeromonas punctata

Aeromonas hydrophila

Aeromonas salmonicida

Nach CASELITZ ⁹ stellen Aeromonas liquefaciens, Aeromonas punctata und Aeromonas hydrophila eine einzige Spezies dar, die er als Aeromonas hydrophila bezeichnet. Besondere Berücksichtigung erfahren nach CASELITZ ⁹ jene Stämme des Genus Aeromonas, die Glukose fermentativ spalten, aber keine Gasbildung zeigen. CASELITZ und GÜNTER ⁸ definieren die Aeromonaden, die aus Glukose Säure bilden, wie folgt:

"Es handelt sich um gramnegative, gerade oder leicht gebogene, lateral oder polar im allgemeinen monotrich begeißelte Stäbchen, die aus Glukose Säure und Gas bilden, über haemolytische Eigenschaften verfügen und auf Grund ihrer biochemischen Leistungen in verschiedene Typen unterteilt werden können."

EWING und Mitarbeiter ¹³ stellen 3 Spezies im Genus Aeromonas auf:

Aeromonas hydrophila

Aeromonas salmonicida

Aeromonas shigelloides

CASELITZ ⁹ schließt sich der Meinung von EWING und Mitarbeiter ¹³ an und ergänzt die Spezies A.hydrophila, indem er vorschlägt, die nichtgasbildenden Aeromonaden als A.hydrophila var.anaerogenes zu bezeichnen. SCHUBERT ⁵⁵ macht den Vorschlag, dem Genus Aeromonas folgende Spezies zuzuordnen:

1. A.hydrophila
2. A.hydrophila subspec.anaerogenes
3. A.punctata
4. A.punctata subspec.caviae
5. A.salmonicida
6. A.salmonicida subspec.achromogenes
7. A.proteolytica

KIELWEIN und Mitarbeiter ²⁸ gelangten bei Untersuchungen zur bakteriologischen Charakterisierung der Aeromonaden zu mit den Literaturangaben weitgehend übereinstimmenden Ergebnissen.

KIELWEIN ³⁰ schließt sich aufgrund eigener Untersuchungen der Einteilung der Aeromonaden nach CASELITZ ⁹ an.

2.2 Die Charakterisierung und Differenzierung von Pseudomonaden und Aeromonaden

2.21 Die Charakterisierung und Differenzierung von Pseudomonaden

In BERGEY'S MANUAL ⁵ werden 149, bei KRASSILNIKOV ³⁷ über 200 und bei PREVOT ⁴⁹ 104 Spezies der Gattung Pseudomonas aufgeführt. Nach JESSEN ²⁵ besteht ein Mißverhältnis zwischen der geringen Zahl der abweichenden Eigenschaften und der großen Zahl der Arten. Nach seiner Meinung bestehen fließende Übergänge in

den Eigenschaften der einzelnen Arten. DE LEY^{10a} sieht die Ursache für die Aufführung so zahlreicher Arten darin, daß auch bei geringer Abweichung in den Eigenschaften einzelner Kulturen jeweils neue Arten aufgestellt wurden.

KLINGE³³ und BEER⁴ unterscheiden nur 3 Spezies, nämlich Ps.aeruginosa, Ps.fluorescens und Ps.putida. TILL⁶⁷ berichtet, daß in Milch mit dem Vorkommen von mindestens 5 definierten Pseudomonas-Arten zu rechnen ist: Ps.aeruginosa, Ps.fluorescens, Ps.putida, Ps.taetrolens und Ps.fragi.

KIELWEIN³⁰ isolierte und identifizierte zunächst aus Milch und Milchprodukten:

Ps.aeruginosa, Ps.fluorescens, Ps.putida, Ps.fragi, Ps.taetrolens, Ps.species(1), Ps.species(2), wobei er für Ps.species(1) die Bezeichnung Ps.caseolytica und für Ps.species(2) die Bezeichnung Ps.putrefaciens vorschlägt, da letztere Art mit einer Referenzkultur von Ps.putrefaciens übereinstimmte. Später ergänzt KIELWEIN³¹ seine Angaben, wie aus Tabelle 1, 2 und 3 hervorgeht. Mit seinem Glutaminat-Stärke-Phenolrot-Nährboden (GSP) züchtete KIELWEIN²⁹ selektiv Pseudomonaden an. Den Weg der Isolierung und Identifizierung von Pseudomonaden mit Hilfe des GSP-Nährbodens zeigt Tabelle 4.

Eine besondere Stellung nimmt die als Typ-Species bezeichnete Ps.aeruginosa ein. Die zahlreichen Berichte zum Vorkommen von Ps.aeruginosa beim Menschen lassen sich kaum noch übersehen. CASELITZ^{7, 9} gibt eine Zusammenfassung der am häufigsten durch Ps.aeruginosa verursachten Erkrankungen: Gastroenteritis, Meningitis, Empyeme, Otitiden, Conjunctivitiden, Infektionen

Tabelle 1

Die wesentlichsten Unterscheidungsmerkmale bei Pseudomonaden
(nach Kielwein)

A. Cytochromoxydase-Reaktion positiv
aerobe Glukosespaltung

	<u>Ps.aeruginosa</u>	<u>Ps.fluorescens</u>	<u>Ps.putida</u>	<u>Ps.fragi</u>	<u>Ps.taetrolens</u>	<u>Ps.species (1)</u>	<u>Ps.species (2)</u> <u>Ps.putrefaciens</u>	<u>Ps.species (3)</u>
Lackmusmilch	AGPR	AGPR	A,R(u)	SG(R)	SG(R)	SGR	(S)(A)	A(G)
pH-Wert von Lackmusmilch	7,6-7,9	7,6-7,9	8,2	< 7,0	< 7,0	5,5-6,5	6,8-7,4	7,8
Pyocyanin	(+)	-	-	-	-	-	-	-
Gelatine	+	+	-	+	-	+	-	-
Kaseolyse	+	+	-	-	-	+	-	-
Tween 40	+	+	(-)	(+)	±	(-)	±	-
Eigelbrekt.	+	+	-	(+)	-	±	-	-
Wachstum 42°C	+	-	-	-	-	-	-	-
N ₂ aus KNO ₃	+	-	-	-	-	-	-	+
Säure aus	Adonit	-	(+)	(-)	-	-	-	+
	Dextrin	-	-	-	-	-	-	+
	Dulcit	-	-	-	-	-	-	+
	Laktose	-	-	-	+	+	(+)	+
	Maltose	-	(+)	(-)	+	+	+	+
	Mannit	+	+	(-)	±	±	-	+
Aesku-lin-spaltung	-	-	-	-	-	-	-	+
Verwertung Chinasäure	+	+	+	+	+	-	+	+

+ = positiv
- = negativ
± = variabel

() = schwache Reaktion
A = Alkalisierung
S = Säuerung

G = Gerinnung
P = Peptonisierung
R = Reduktion

Tabelle 2

Die wesentlichsten Unterscheidungsmerkmale bei Pseudomonaden
(nach Kielwein)

B. Cytochromoxydase-Reaktion negativ

		Gruppe							
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
oxyd. Glukoseabb.		+	+	+	+	+	+	-	-
oxyd. Propanolsp.		+	+	+	(+)	(+)	±	+	+
oxyd. Butanolsp.		+	+	(+)	(+)	(+)	±	(+)	+
Lackmusmilch		A > 8,4	AS < 7,2	S < 6,9	A > 7,45	AG > 7,2	AG > 7,7	AS 6,6-8,5	AG > 7,8
Gelatinespaltg.		-	-	-	-	-	(+)	-	-
Kaseolyse		-	-	-	-	-	(+)	-	-
Tween 40 Spalt.		+	+	-	(+)	-	+	(+)	+
Eigelbreaktion		+	±	-	+	(-)	(+)	±	-
Säure aus	Adonit	-	-	+	-	(+)	(-)	-	-
	Arabinose	-	+	+	±	+	±	-	-
	Dulcit	-	-	+	-	±	-	-	-
	Erythrit	-	-	-	-	-	-	-	±
	Fruktose	-	-	+	(-)	+	(+)	-	+
	Glyzerin	-	-	+	±	(+)	±	-	±
	Laktose	-	(+)	+	-	(+)	±	-	-
	Mannit	-	-	+	(-)	+	(-)	-	+
	Xylose	-	+	+	±	+	±	-	-
Aeskulinspaltg.		-	-	(+)	-	(+)	(+)	-	-

+ = positiv, - = negativ, ± = variabel, () = schwache Reaktion
A = Alkalisierung, S = Säuerung, G = Gerinnung

Tabelle 3

Die wesentlichsten Unterscheidungsmerkmale bei Pseudomonaden
(nach Kielwein)

C. Cytochromoxydase positiv
kein Glukoseabbau

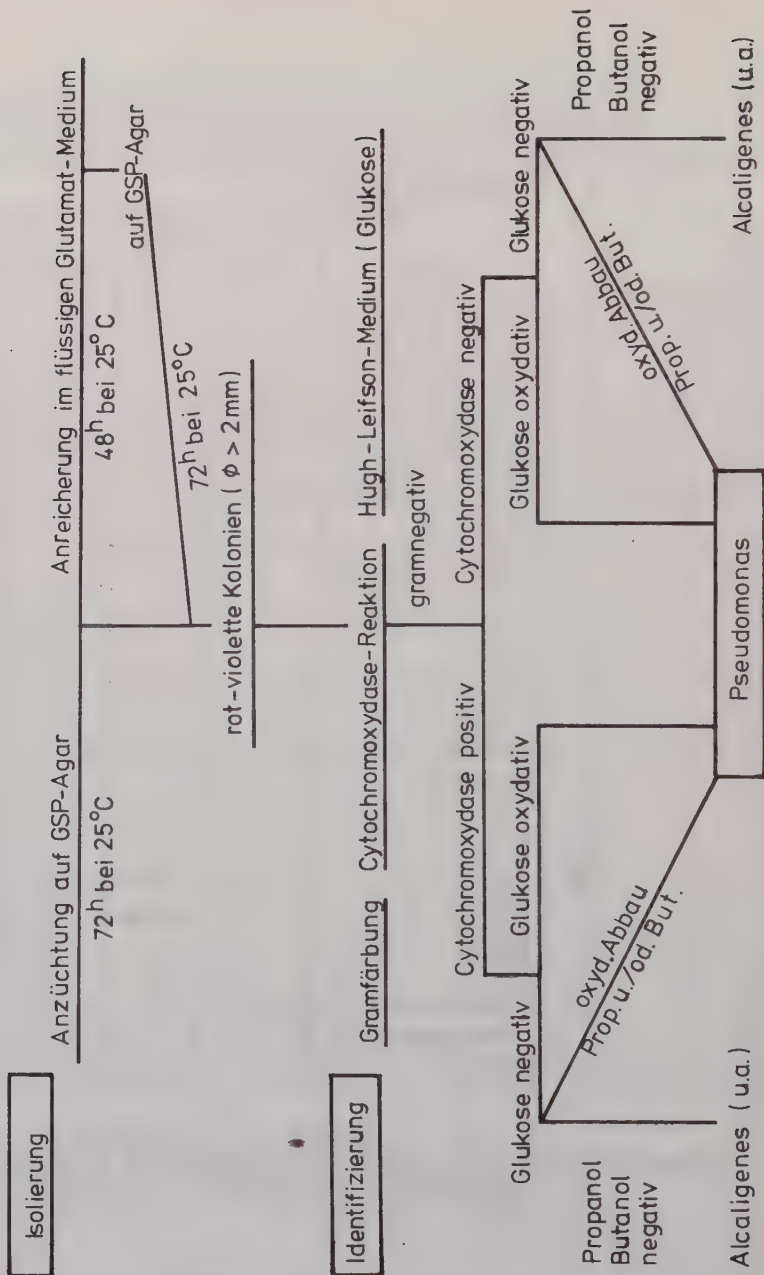
		Gruppe		
		IX	X	XI
	Cytochromoxydase	+	+	+
	oxyd. Propanolsp.	+	+	(+)
	oxyd. Butanolsp.	(+)	-	(-)
	Lackmusmilch	A > 7,5	A (G)	AS < 7,3
	Gelatinespaltg.	-	-	-
	Kaseolyse	-	-	-
	Tween 40 Spaltg.	-	+	(-)
	Eigelbreaktion	-	-	-
Säure aus	Adonit	-	-	(-)
	Arabinose	-	(-)	(-)
	Dulcit	-	-	-
	Erythrit	-	+	(-)
	Fruktose	-	+	+
	Glyzerin	-	±	±
	Laktose	-	-	-
	Mannit	-	+	(-)
	Xylose	-	(-)	(-)
	Aeskulinspaltg.	-	(-)	-

+ = positiv, - = negativ, ± = variabel, () = schwache Reaktion

A = Alkalisierung, S = Säuerung, G = Gerinnung

Tabelle 4

Die Isolierung und Identifizierung von Pseudomonaden (nach Kielwein)



der Harnwege, der Haut, des Respirationstraktes sowie Allgemeininfektionen. Besonders Kinder im Säuglingsalter sollen besonders empfänglich sein, wobei bei diesen Patienten ein hoher Mortalitätsfaktor besteht. Wegen der Gefährlichkeit von Ps.aeruginosa vertritt KIELWEIN ³⁰ die Ansicht, das Inverkehrbringen von Trinkmilch, Vorzugsmilch und Milchprodukten, die Ps.aeruginosa enthalten, sei zu verbieten. Für die Kontamination mit sonstigen Pseudomonaden gibt er Grenzwerte an, die nicht überschritten werden sollten.

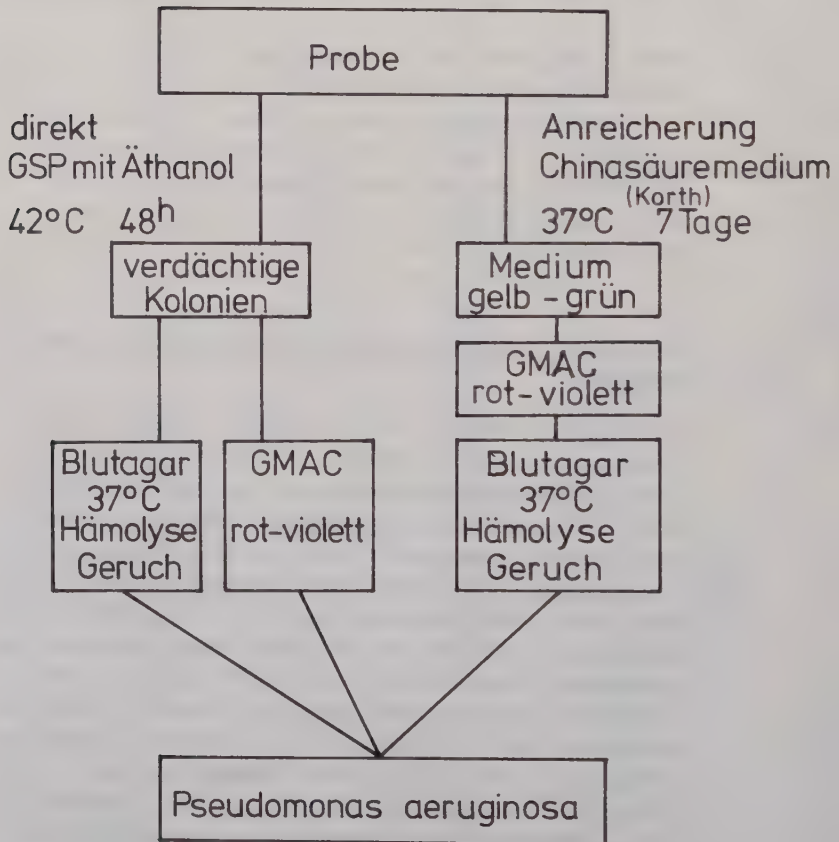
MOSSEL und INDACOCHEA ⁴³ entwickelten den Glycerol-Mannitol-Acetamid-Cetrimid-Agar (GMAC), der bei Wachstum von Ps.aeruginosa von gelb nach rot umschlägt. KIELWEIN ³¹ verwendet diesen Nährboden zusammen mit dem GSP-Agar und dem Chinasäuremedium nach KORTH ³⁶ zur selektiven Züchtung und Identifizierung von Ps.aeruginosa (Tabelle 5).

2.22 Die Charakterisierung und Differenzierung von Aeromonaden

Die meisten Arbeiten über die Charakterisierung von Aeromonaden sind von CASELITZ ⁹ referiert worden. Danach sind Aeromonaden gramnegative, nicht säurefeste und nicht sporenbildende Stäbchen, die im allgemeinen polarmonotrich begeißelt sind. Nur A.salmonicida ist unbeweglich. Alle Stämme von A.hydrophila geben eine positive Cytochromoxydase-Reaktion und spalten Glukose fermentativ mit oder bei der anaerogenen Variante ohne Gasbildung. Die Mehrzahl der Stämme zeigt in Lackmusmilch Peptonisierung und Reduktion sowie Säurebildung innerhalb von 2 - 3 Tagen ^{56, 57}. Die Arginindehydrogenase-Reaktion ist bei allen Stämmen positiv ⁹. KIELWEIN ³⁰ hält eine Unterscheidung der Aeromonaden in A.hydrophila und A.hydrophila var.anaerogenes in

Tabelle 5

Die selektive Züchtung und Identifizierung von
Pseudomonas aeruginosa
(nach Kielwein)



milchhygienischer Sicht für ausreichend. Der von KIELWEIN entwickelte GSP-Agar ist durch seinen Anteil an Stärke und Phenolrot auch zur selektiven Anzucht von Aeromonaden geeignet. Die Aeromonaden wachsen als gelbe Kolonien und verfärben auch den GSP-Agar gelb ²⁹.

E i g e n e U n t e r s u c h u n g e n

3.0 M a t e r i a l u n d M e t h o d e n

3.1 M a t e r i a l

3.11 Untersuchungsmaterial und Kulturen

Aus 23 Molkereien im Regierungsbezirk Südwürttemberg-Hohenzollern wurden insgesamt 568 Proben auf ihren Gehalt an Pseudomonaden und Aeromonaden untersucht. Als Untersuchungsmaterial dienten im einzelnen: 132 Proben aus Rohmilch und der daraus hergestellten Pasteurisierten Trinkmilch, 96 Proben aus Rohrahm und der daraus hergestellten Schlagsahne, 133 Proben aus Rohrahm und der daraus hergestellten Butter, 69 Wasserproben, 69 Luftproben und 69 Tupferproben von Abstrichen der Fußböden und Wände der Molkereiverarbeitungsräume.

3.12 Nährböden und Reagenzien

1. Glutaminat-Stärke-Phenolrot(GSP)-Agar nach KIELWEIN ²⁹
2. Vollblutagar mit 8 % Rinderblut, 0,1 % Glukose
3. Chinasäurenährboden flüssig nach KORTH ³⁶
4. Nährgelatine
5. Lackmusmilch - HALLMANN ¹⁸
6. Eigelbagar nach KLINGE ³²
7. Kaseinagar nach FRAZIER und RUPP ¹⁴
8. 0,15 % Nitratbouillon mit 1 % Fleischextrakt
9. Tweennährboden zum Lipasenachweis nach SIERRA ⁶⁰
Zusatz von Tween 20, 40, 60, 80 (Serva Art.Nr. 37470/72/74/75 aus Serva-Entwicklungslabor Heidelberg, Katalog von 1968)
10. Flüssiges Glutaminat-Medium nach KIELWEIN ²⁹
11. HUGH-LEIFSON-Medium ²⁵ mit Zusatz folgender Zucker

- (1%ig) und Alkohole (2%ig): Glukose, Maltose, Dextrin, Adonit, Arabinose, Dulcit, Erythrit, Fruktose, Laktose, Mannit, Aeskulin, Xylose, Glyzerin, Propanol und Butanol.
12. Nährbouillon zur Prüfung der Spaltung und Gasbildung mit Zusatz von 1 % Glukose (mit Gärröhrchen) in der von SCHUBERT ⁵³ angegebenen Zusammensetzung.
13. Cytochromoxydasereagenz
Mischung einer 1%igen wässrigen N,N-Dimethyl-p-phenyldiammoniumdichlorid-Lösung (Merck, Darmstadt, Katalog 1970/71, Art.Nr. 3067) und einer 1%igen alkoholischen Lösung von α -Naphtol (Serva Entwicklungslabor Heidelberg, Katalog von 1968, Kat.Nr. 29975) im Verhältnis 3:2 (CASELITZ ⁹)
14. Glycerol-Mannitol-Acetamid-Cetrimid-Agar (GMAC) nach MOSSEL und INDACOCHEA ⁴³.

3.2 Methoden

3.21 Die Probenentnahme

In jeder überprüften Molkerei wurden Stufenkontrollen bei der Herstellung von Trinkmilch, Schlagsahne und Butter durchgeführt. Die Proben wurden, soweit sie flüssig waren, mit einem sterilen Stechheber entnommen. Etwa 100 ml wurden von jeder Probe in eine sterile Flasche abgefüllt. Bei der Butter wurden ca. 20 g mit einem sterilen Messer entnommen und in sterilen Plastikpetrischalen transportiert.

Die folgenden Stufen wurden kontrolliert:

Rohmilch bzw. Rohrahm, unmittelbar nach der Pasteurisierung, nach dem Kühler, Vorrats- bzw. Lagertank, vor der Abfüllanlage, nach der Abfüllanlage und das leere Packmaterial. Bei der Butterherstellung wurde zusätzlich eine Probe

vom Butterwaschwasser bzw. bei kontinuierlichen Butterfertigern vom Dosierwasser und von der Buttermilch entnommen.

Zur Untersuchung des Brauchwassers wurden je eine Probe aus einem Wasserschlauch, einem Wasserhahn direkt und aus dem gleichen Wasserhahn nach Abflammen mit einem Propangasbrenner entnommen; dabei wurden jeweils 500 ml Wasser direkt in eine sterile Flasche abgefüllt.

Für die Bestimmung des Keimgehaltes der Luft wurden in jeder Molkerei je eine Petrischale mit GSP-Nährboden und eine Petrischale GSP-Nährboden mit Äthanolzusatz für 1 Stunde in den Bearbeitungsräumen aufgestellt. Gleichzeitig wurden mit einer Membranluftpumpe (KNF-Hochleistungs-Membrankompressor Type AL 17 der Firma Kurt Neuberger KG Freiburg) an zwei verschiedenen Stellen der Bearbeitungsräume je 200 Liter Luft über einen Membranfilter (Sartorius-Membranfilter GmbH Göttingen, Kat.Nr. 11407, $\varnothing$ 50 mm, Porengröße 0,0002 mm) gesaugt. Der mit sterilisiertem Leitungswasser benetzte Filter wurde dann sofort auf je einen GSP-Nährboden und GSP-Nährboden mit Äthanolzusatz (in Petrischalen) gelegt. Die Petrischalen wurden zum Transport mit Klebestreifen verschlossen.

Der Keimgehalt von Fußböden und Wänden wurde durch Tupferproben ermittelt. Mit Hilfe einer Metallschablonen, die vor jeder Probe abgeflammt wurde, konnte eine Fläche von 0,01 m² mit einem sterilen feuchten Wattetupfer abgestrichen werden. In jeder Molkerei wurde auf diese Weise je ein Abstrich vom Fußboden, von einer gekachelten Wand und von der Außenwand eines Lagertanks durchgeführt. Die Tupfer wurden zum Transport in sterilen Glasflaschen aufbewahrt.

Alle Proben wurden gekühlt ins Labor transportiert und spätestens 6 - 8 Stunden nach der Probennahme verarbeitet.

3.22 Die bakteriologische Untersuchung

3.221 Die Isolierung und Differenzierung von Pseudomonaden

Die Isolierung von Pseudomonaden wurde nach dem Schema von KIELWEIN³¹ durchgeführt (Tabelle 4). Von allen Milch- und Rahmproben wurden 0,01 ml auf GSP- Nährboden ausgestrichen und 0,1 ml ausgespatelt. Da auf diese Weise nur Keimzahlen über 10 pro ml ermittelt werden können, wurde gleichzeitig von jeder Probe 0,5 ml in das flüssige Glutaminat-Medium gegeben. Die festen Nährböden wurden 72 Std. bei 25°C und die flüssigen 48 Std. bei 25°C bebrütet. Aus dem Anreicherungsmedium wurde dann ebenfalls ein Ausstrich mit 0,01 ml und eine Ausspatelung mit 0,1 ml auf GSP-Nährboden gemacht und 72 Std. bei 25°C bebrütet. Die auf GSP-Nährboden gewachsenen Kolonien wurden zahlenmäßig erfaßt und von jeder sich morphologisch von der anderen unterscheidenden Kolonie eine Subkultur auf Blut-Agar angelegt und 48 Std. bei 25°C bebrütet. Die gewachsenen Kulturen wurden dann auf Morphologie, Hämolyse, Cytochromoxydase-Reaktion, Gramfärbung und im HUGH-LEIFSON-Medium auf Spaltungsvermögen von Glukose überprüft. Entsprechend Tabellen 1, 2 und 3 nach dem Schlüssel von KIELWEIN³¹ erfolgte dann die Identifizierung der einzelnen Spezies.

Parallel zur Isolierung der Pseudomonaden allgemein wurde entsprechend Tabelle 5 eine selektive Züchtung und Anreicherung von Ps.aeruginosa versucht. Verwendet

wurde dazu der GSP-Nährboden mit Äthanolzusatz (GSPA), der 48 Std. bei 42°C bebrütet wurde, das Chinasäuremedium nach KORTH ³⁶, welches 7 Tage bei 37°C bebrütet wurde, Blutagar (24 Std. bei 37°C) und GMAC-Nährboden nach MOSSEL und INDACOCHEA ⁴³ (48 Std. bei 42°C).

Die Butterproben wurden wie folgt verarbeitet:
5 g Butter und 10 ml steriles Leitungswasser wurden mit einer Analysenmühle homogenisiert, dann wie die Milchproben angelegt, jedoch wurden zur Ausspatelung 0,2 ml des Homogenisates verwendet. Die Anreicherungen wurden entsprechend den Milchproben angelegt.

Zur Untersuchung des leeren Packmaterials, wachsbeschichtete Pappackungen, Plastikmilchtüten, Plastik-sahnebecher und Butterpapiere, wurden sterile Wattetupfer benutzt, mit denen die Innenflächen des Packmaterials abgestrichen wurden. Diese Tupfer und die Tupfer mit den Abstrichen von Fußböden und Wänden wurden in 100 ml sterilisiertem Leitungswasser durch kräftiges Schütteln ausgewaschen. Die Verarbeitung dieses Wassers erfolgte dann wie bei den Milchproben, zusätzlich wurden noch je 1 ml und 10 ml über einen Membranfilter ⁺) gesaugt und die Filter direkt auf GSP- und GSPA-Nährböden gebracht.

Zur Keimzahlbestimmung der Wasserproben wurden je 10 ml und 100 ml Wasser über einen Membranfilter ⁺) gesaugt und dann auf GSP- und GSPA-Nährböden gebracht. Die Anreicherung auf Pseudomonaden und selektiv auf Ps.aeruginosa erfolgte nach dem Schema von KIELWEIN ³¹ (Tabellen 4 und 5).

Alle auf GSP-Nährboden gewachsenen Kolonien wurden nach dem Schlüssel von KIELWEIN ³¹ differenziert (Tabellen 1 - 3).

⁺) Sartorius Membranfilter GmbH Göttingen, Art.Nr.11407

3.222 Die Isolierung und Differenzierung von Aeromonaden

Die Isolierung von Aeromonaden erfolgte wie bei den Pseudomonaden über GSP-Agar. Von allen Kolonien, die auf GSP-Agar gelb wuchsen und die den Nährboden gelb verfärbten, wurde auf Blutagar eine Subkultur angelegt. Die Identifizierung und Differenzierung der Kulturen erfolgte nach dem von KIELWEIN²⁸ angegebenen Schema.

Von den nicht als Pseudomonaden oder Aeromonaden identifizierten Kulturen gramnegativer Bakterien wurden die Kulturen, die Glukose im HUGH-LEIFSON-Medium fermentativ abbauten und in der Cytochromoxydase negativ waren, zu den Enterobacteriaceae gerechnet, während alle Kulturen, die weder Glukose noch Propanol und Butanol im HUGH-LEIFSON-Medium abbauen konnten, der Gattung Alcaligenes zugeordnet wurden.

4.0 E r g e b n i s s e

4.1 Die Kontamination mit Pseudomonaden und Aeromonaden

4.11 Rohmilch und pasteurisierte Trinkmilch

Bedingt durch die unterschiedliche technische Ausstattung der einzelnen überprüften Molkereien war es nicht immer möglich, die gleichen Stufen zu kontrollieren. Dadurch erklären sich die unterschiedlichen Probenanzahlen in den einzelnen Untersuchungsstufen.

Aus 21 Molkereien wurden insgesamt 132 Proben untersucht. Alle Rohmilchproben enthielten Pseudomonaden. Nur bei einer Probe (=5 %) lag die Pseudomonadenzahl unter 1 000 Keimen pro ml, bei 8 Proben zwischen 1 000 und 10 000 Keimen pro ml (=38%) und 12 Proben enthielten über 10 000 Keime pro ml (=57 %) (Tabelle 6).

Der Anteil der mit Pseudomonaden kontaminierten Milchproben betrug bei Probeentnahme unmittelbar nach der Pasteurisierung 14,3 % und erreichte nach der Abfüllung 90,3 % (Tabelle 6). Mit steigender Stufenzahl nahm sowohl der prozentuale Anteil der kontaminierten Milchproben als auch die Keimzahl zu. Das Packmaterial erwies sich als zu 31,6 % mit Pseudomonaden kontaminiert.

4.12 Rohrahm und Schlagsahne

Aus 15 Molkereien wurden insgesamt 96 Proben untersucht. Der Rohrahm erwies sich sowohl prozentual als auch mengenmäßig als die am stärksten kontaminierte Stufe. Bei mit der Stufenzahl ansteigender prozentualer und zahlenmäßiger Kontamination erwiesen sich

Tabelle 6

Kontamination von Rohmilch und pasteurisierter Trinkmilch mit Pseudomonaden

Anzahl der Molkereien insgesamt: 21

Anzahl der untersuchten Proben insgesamt: 132

Entnahmestufe der Probe	Anzahl der untersuch- ten Proben	Pseudo- monaden nachge- wiesen	in %	Anzahl der Pseudomonaden pro ml Milch				
				Nachweis nur durch Anreiche- rung	bis 100	bis 1000	bis 10000	üb. 10000
Rohmilch	21	21	100,0	-	-	1	8	12
unmittelbar nach Pasteu- risierung	14	2	14,3	1	1	-	-	-
nach Kühler	16	7	43,6	1	4	2	-	-
Vorratstank	21	13	61,9	4	5	4	-	-
vor Abfüllgerät	20	16	80,0	5	2	9	-	-
nach Abfüllen	21	19	90,5	5	6	6	2	-
Packmaterial	19	6	31,6	6	-	-	-	-

Tabelle 7

Kontamination von Rohrahm und Schlagsahne mit Pseudomonaden

Anzahl der Molkereien insgesamt: 15

Anzahl der untersuchten Proben insgesamt: 96

Entnahmestufe der Probe	Anzahl der untersuch- ten Proben	Pseudo- monaden nachge- wiesen	in %	Anzahl der Pseudomonaden pro ml				
				Nachweis nur durch Anreicher- ung	bis 100	bis 1000	bis 10000	üb. 10000
Rohrahm	15	15	100,0	-	-	-	9	6
unmittelbar nach Pasteuri- sierung	11	2	18,2	1	1	-	-	-
nach Kühler	11	3	45,5	2	2	1	-	-
Vorratstank	12	8	66,5	5	2	1	-	-
vor Abfüllgerät	12	10	83,2	3	3	4	-	-
nach Abfüllgerät	15	14	93,4	5	1	5	3	-
Packmaterial	15	1	6,7	1	-	-	-	-

in der Endstufe 93,4 % als mit Pseudomonaden kontaminiert. Das Packmaterial war jedoch nur zu 6,7 % mit Pseudomonaden kontaminiert (Tabelle 7).

4.13 Rohrahm und Butter

Auch in 17 Molkereien, die Butter herstellen, konnte bei der Untersuchung von 133 Butterproben eine Zunahme der Pseudomonadenkontamination von frisch pasteurisiertem Rahm und einer Ausgangskontamination von 20,0 % bis zum ausgeformten Produkt mit 88,2 % beobachtet werden. Bemerkenswert ist, daß die wässrige Phase Buttermilch prozentual mit 100,0 % und auch zahlenmäßig sehr hoch kontaminiert war. Das Packmaterial war zu 5,88 % kontaminiert (Tabelle 8).

4.14 Brauchwasser

Aus allen 23 untersuchten Molkereien wurden je 3 Wasserproben gezogen und untersucht. Hier standen hinsichtlich der zahlenmäßigen Kontamination die langen Wasserschläuche an erster Stelle, während prozentual die Anteile der drei Stufen gleich sind. Wie aus Tabelle 9 hervorgeht, weisen die Mittelwertberechnungen der gefundenen Keimzahlen auf die Bedeutung der langen Wasserschläuche als bemerkenswerte Kontaminationsquelle beim Ausspülen von Milchgefäßen hin.

4.15 Luft

In allen 23 Molkereien wurden je 2 Luftproben mittels der Membranfiltermethode und je eine mittels Sedimentierverfahren überprüft. Tabelle 10 zeigt, daß durch das Sedimentierverfahren etwa dreimal häufiger der

Tabelle 8

Kontamination von Rohrahm und Butter mit Pseudomonaden

Anzahl der Molkerereien insgesamt: 17

Anzahl der untersuchten Proben insgesamt: 133

Entnahmestufe der Probe	Anzahl der untersuch- ten Proben	Pseudo- monaden nachge- wiesen	in %	Anzahl der Pseudomonaden pro ml bzw. g			
				Nachweis nur durch Anreiche- rung	bis 100	bis 1000	bis 10000 üb. 10000
Rohrahm	17	17	100,0	-	-	-	5
unmittelbar nach Pasteu- risierung	10	2	20,0	2	-	-	-
nach Kühler	11	3	27,1	-	3	-	-
Vorratstank	17	12	70,3	1	7	3	-
Dosier- bzw. Waschwasser	10	8	80,0	2	2	4	-
Buttermilch	17	17	100,0	2	3	8	2
vor dem Ausformen	17	13	76,5	7	2	4	-
nach dem Ausformen	17	15	88,2	7	3	5	-
Packmaterial	17	1	5,88	-	-	1	-

Tabelle 9

Kontamination des Brauchwassers in Molkereien mit Pseudomonaden

Anzahl der Molkereien insgesamt: 23

Anzahl der untersuchten Proben insgesamt: 69

Entnahmestelle der Probe	Anzahl der untersuchten Proben = Molkereien	Pseudomonaden nachgewiesen	in %	Zahl der Pseudomonaden/100 ml				
				Nachweis nur durch Anreicherung	bis 10	bis 100	bis 1000	üb. 1000
langer Wasser-schlauch	23	21	91,4	1	4	9	4	3
Wasserhahn vor Abflammen	23	21	91,4	1	5	10	5	-
Wasserhahn nach Abflammen	23	21	91,4	-	6	13	2	-

Mittelwerte der in 100 ml Wasser nachgewiesenen Pseudomonaden

	Schlauch	Wasserhahn vor Abflammen	Wasserhahn nach Abflammen
Arithmetisches Mittel ($\bar{x}$)	322	98	42
Geometrisches Mittel ($\bar{x}_g$)	27	18	8
Maximalwerte (x max.)	3 200	800	440

Nachweis von Keimen gelang, als durch die Membranfiltermethode.

4.16 Fußböden und Wände

In allen 23 Molkereien wurden je ein Abstrich vom Fußboden, von einer Wand und einer Außenwand eines Tanks mittels sterilem Wattetupfer untersucht. Wie aus Tabelle 11 hervorgeht, wies der Fußboden der Molkereiverarbeitungsräume die höchste Kontaminationsstufe der drei Stufen, sowohl prozentual als auch in zahlenmäßiger Hinsicht auf.

4.2 Die Differenzierung der gramnegativen Kulturen

4.21 Die Gesamtzahlen der einzelnen Spezies

Tabelle 12 gibt eine Übersicht aller aus sämtlichen Proben isolierter Kulturen. Der größte Anteil entfällt auf Ps.fluorescens mit 25,9 %, jedoch bewegt sich der Anteil der Pseudomonaden mit negativer Cytochromoxydase-Reaktion mit 23,6 % in der gleichen Größenordnung. Dann folgt Ps.putida mit 13,3 % und Ps.aeruginosa mit 8,4 %. Die übrigen Pseudomonadenarten machen jeweils weniger als 5 % der Gesamtzahlen aus. Auch der Anteil an A.hydrophila ist mit 4,4 % verhältnismäßig gering. Der Anteil der als dem Genus Alcaligenes zugehörig angesprochenen Kulturen lag mit 2 Kulturen unter 0,4 %. Die auf dem GSP-Medium angewachsenen Enterobakterien lagen mit 6,6 % an fünfter Stelle.

4.22 Rohmilch und pasteurisierte Trinkmilch

Bei der Differenzierung der Kulturen aus Rohmilch und

Tabelle 10

Kontamination von Luft in Molkereien mit Pseudomonaden

Anzahl der Molkereien insgesamt: 23

Anzahl der untersuchten Proben insgesamt: 69

Methodik der Probe	Anzahl der untersuchten Proben	Pseudomonaden nachgewiesen	in %	Anzahl der Pseudomonaden pro m ³		
				bis 10	bis 50	bis 100
Membranfiltermethode	46	9	19,6	4	4	1
Sedimentierverfahren	23	15	65,3	keine Angabe pro m ³ möglich		

Tabelle 11

Kontamination von Fußböden und Wänden in Molkereien mit Pseudomonaden

Anzahl der Molkereien insgesamt: 23

Anzahl der untersuchten Proben insgesamt: 69

Entnahmestufe der Probe	Anzahl der untersuch- ten Proben =Molkereien	Pseudo- monaden- nachge- wiesen	in %	Anzahl der Pseudomonaden/m ² Fläche				
				bis 10 ⁵	bis 10 ⁶	bis 10 ⁷	bis 10 ⁸	üb. 10 ⁸
Fußboden	23	16	69,6	-	2	3	8	3
Wand	23	5	21,8	1	-	1	3	-
Außenwand eines Vorratstanks	23	7	30,5	2	2	3	-	-

pasteurisierter Trinkmilch (Tabelle 13) fällt bei Rohmilch der hohe Anteil von Ps.aeruginosa und der Enterobakterien auf, während in pasteurisierter Trinkmilch Ps.putida, Ps.spec. 1 und die cytochromoxydasenegativen Pseudomonaden den höchsten Anteil ausmachen. Die übrigen Arten sind in etwa vor und nach der Pasteurisierung zu gleichen Anteilen vertreten.

4.23 Rohrahm und Schlagsahne

Für die Verteilung der Arten in Rohrahm und Schlagsahne ergibt sich ein ähnliches Bild wie bei Roh- bzw. pasteurisierter Milch: ein hoher Anteil von Ps.aeruginosa im Rohrahm, ein geringer Anteil auf der pasteurisierten Seite. Ps.fluorescens und Ps.putida mit einem höheren Anteil nach der Pasteurisierung, während Ps.spec. 1 und Ps.spec. 2 nur in den pasteurisierten Proben nachweisbar waren.

4.24 Rohrahm und Butter

Auch bei der Differenzierung der Kulturen aus Rohrahm und den einzelnen Stufen der Butterherstellung zeigt sich deutlich der hohe Anteil von Ps.aeruginosa im Rohrahm und der geringe Anteil in allen Stufen der pasteurisierten Seite. Wie bei der Trinkmilch ist auch hier ein überwiegendes Vorkommen von Ps.putida, Ps.spec. 1 und den cytochromoxydasenegativen Pseudomonaden nach der Pasteurisierung augenfällig. Ps.spec. 2 konnte nur im pasteurisiertem Produkt angetroffen werden (Tabelle 15).

4.25 Brauchwasser

Bei der Differenzierung der Kulturen aus dem Brauch-

Tabelle 12

Gesamtzahlen der isolierten und identifizierten
Kulturen gramnegativer Bakterien

		in %
<u>Ps. aeruginosa</u>	47	8,4
<u>Ps. fluorescens</u> (var.haem.)	146 (19)	25,9
<u>Ps. putida</u>	75	13,3
<u>Ps. fragi</u>	19	3,4
<u>Ps. taetrolens</u>	20	3,6
<u>Ps. spec. 1</u>	27	4,8
<u>Ps. spec. 2</u>	7	1,2
<u>Ps. spec. 3</u>	7	1,2
sonst.Pseudomonaden mit pos.Cytochromoxy- dase-Reaktion	18	3,2
sonst.Pseudomonaden mit neg.Cytochromoxy- dase-Reaktion	133	23,6
<u>Aeromonas hydrophila</u> (var.anaerogenes)	25 (1)	4,4
Alcaligenes	2	0,4
auf GSP-Nährboden gew.Enterobakt.	37	6,6
Kulturen insgesamt	563	100,0

Tabelle 13

Zahl der aus Roh- und Trinkmilch isolierten
Kulturen gramnegativer Bakterien

	Rohmilch	past. Milch insgesamt	Stufenkontrollen						Gesamtzahl
			unmittelbar nach Pasteuri- sierung	nach Kühler	Vorratstank	vor dem Abfüllen	nach dem Abfüllen	Packmaterial	
<u>Ps.aeruginosa</u>	15	1	-	-	-	-	1	-	16
<u>Ps.fluorescens</u> (var. haem.)	13(2)	12(1)	1	1	3	4	3(1)	-	25(3)
<u>Ps. putida</u>	4	17	2	2	3	3	5	2	21
<u>Ps. fragi</u>	1	3	-	-	-	-	2	1	4
<u>Ps. taetrolens</u>	3	3	-	-	-	1	2	-	6
<u>Ps. spec. 1</u>	1	6	1	-	-	1	4	-	7
<u>Ps. spec. 2</u>	-	1	-	-	1	-	-	-	1
<u>Ps. spec. 3</u>	1	-	-	-	-	-	-	-	1
sonst.Pseudomonaden mit pos.Cytochromoxy- dase-Reaktion	1	1	-	-	1	-	-	-	2
sonst.Pseudomonaden mit neg.Cytochromoxy- dase-Reaktion	9	23	-	3	5	7	6	2	32
<u>Aeromonas hydrophila</u> (var. anaerogenes)	7(1)	6	-	-	2	2	2	-	13(1)
auf GSP-Nährboden gew.Enterobakt.	15	6	-	-	3	-	3	-	21
Kulturen insgesamt	70	79	4	6	18	18	28	5	149

Tabelle 14

Zahl der aus Schlagsahne isolierten
Kulturen gramnegativer Bakterien

	Rohrahm	past. Schlagsahne insgesamt	Stufenkontrollen						Gesamtzahl
			unmittelbar nach Pasteurisierung	nach Kühler	Tank	vor dem Abfüllen	nach dem Abfüllen	Packmaterial	
<u>Ps.aeruginosa</u>	8	1	-	-	-	-	1	-	9
<u>Ps.fluorescens</u> (var. haem.)	10(2)	17(2)	3	4(1)	4(1)	1	4	1	27(4)
<u>Ps.putida</u>	2	6	-	1	-	1	4	-	8
<u>Ps.fragi</u>	1	3	-	-	-	-	3	-	4
<u>Ps.taetrolens</u>	1	3	-	-	-	1	2	-	4
<u>Ps.spec. 1</u>	-	4	-	-	-	1	3	-	4
<u>Ps.spec. 2</u>	-	2	-	1	-	1	-	-	2
sonst.Pseudomonaden mit pos.Cytochromoxy- dase-Reaktion	-	1	-	-	-	-	1	-	1
sonst.Pseudomonaden mit neg.Cytochromoxy- dase-Reaktion	7	10	-	1	2	4	3	-	17
<u>Aeromonas hydrophila</u> (var. anaerogenes)	2	1	-	-	-	-	1	-	3
<u>Alcaligenes</u>	-	1	-	-	-	1	-	-	1
auf GSP-Nährboden gew.Enterobakt.	1	2	-	-	1	-	1	-	3
Kulturen insgesamt	32	51	3	7	7	10	23	1	83

Tabelle 15

Zahl der aus Butter isolierten Kulturen
gramnegativer Bakterien

	Rohrahm	past.Rahm bzw. Butter insgesamt	Stufenkontrollen								Gesamtzahl
			unmittelbar nach Pasteurisierung	nach Kühler	Tank	Dosier- bzw. Waschwasser	Buttermilch	vor dem Ausformen	nach dem Ausformen	Packmaterial	
<u>Ps.aeruginosa</u>	13	3	1	-	-	-	1	1	-	-	16
<u>Ps.fluorescens</u> (var.haem.)	11(3)	13	1	-	2	3	4	-	3	-	24(3)
<u>Ps.putida</u>	4	20	2	1	2	1	5	4	5	-	24
<u>Ps.fragi</u>	2	5	-	-	-	-	1	2	2	-	7
<u>Ps.taetrolens</u>	1	5	-	-	-	1	1	1	2	-	6
<u>Ps.spec. 1</u>	1	8	-	-	3	1	1	1	2	-	9
<u>Ps.spec. 2</u>	-	4	-	-	1	1	2	-	-	-	4
<u>Ps.spec. 3</u>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
sonst.Pseudomonaden mit pos.Cytochromoxy- dase-Reaktion	2	6	1	-	-	1	2	1	1	-	8
sonst.Pseudomonaden mit neg.Cytochromoxy- dase-Reaktion	7	29	-	-	2	3	9	5	7	3	36
<u>Aeromonas hydrophila</u> (var.anaeroganes)	2	4	1	1	-	-	1	1	-	-	6
auf GSP-Nährboden gew.Enterobakt.	5	7	-	-	2	1	3	-	1	-	12
Kulturen insgesamt	49	104	6	2	12	12	30	16	23	3	153

wasser der Molkereien ist der sehr hohe Anteil von Ps.fluorescens und der hohe Anteil der cytochromoxydase-negativen Pseudomonaden und Ps.putida bemerkenswert. Ps.aeruginosa konnte nach Abflammen der Wasserhähne nicht ermittelt werden (Tabelle 16).

4.26 Luft

Die aus der Luft isolierten Keime waren vorwiegend den cytochromoxydasenegativen Pseudomonaden und Ps.fluorescens zuzuordnen, während alle anderen Arten nur ganz vereinzelt vorkamen (Tabelle 17).

4.27 Fußböden und Wände

Besondere Erwähnung innerhalb der von den Fußböden und Wänden isolierten Kulturen bedürfen die cytochromoxydasenegativen Pseudomonaden, Ps.fluorescens und Ps.putida (Tabelle 18).

4.3 Häufigkeitsverteilung der identifizierten Kulturen

In den Tabellen 19, 20 und 21 sind die Untersuchungsergebnisse zum Vorkommen der identifizierten Kulturen nach folgenden Gesichtspunkten zusammengefaßt:

- a) Häufigkeitsverteilung im Rohmaterial (Tabelle 19),
- b) Häufigkeitsverteilung im pasteurisierten Produkt (Tabelle 20),
- c) Häufigkeitsverteilung in der Umwelt (Tabelle 21).

Im Rohmaterial war Ps.aeruginosa die am häufigsten nachgewiesene Pseudomonadenart. Mit 23,8 % der aus dem Rohmaterial isolierten Keime steht Ps.aeruginosa vor Ps.fluorescens mit 22,6 %, den cytochromoxydase-negativen Pseudomonaden mit 15,2 % und den Enterobak-

Tabelle 16

Zahl der aus Brauchwasser isolierten
Kulturen gramnegativer Bakterien

	Wasser- schlauch	Wasser ohne hahnab- flammen	Wasser nach hahnab- flammen	Gesamtzahl
<u>Ps.aeruginosa</u>	2	1	-	3
<u>Ps.fluorescens</u> (var. haem.)	19(4)	15(1)	18(1)	52(6)
<u>Ps. putida</u>	3	4	5	12
<u>Ps. fragi</u>	1	-	1	2
<u>Ps.taetrolens</u>	-	1	-	1
<u>Ps. spec. 1</u>	1	4	1	6
<u>Ps. spec. 2</u>	-	-	-	-
<u>Ps. spec. 3</u>	4	-	-	4
sonst.Pseudomonaden mit pos.Cytochromoxy- dase-Reaktion	-	-	1	1
sonst.Pseudomonaden mit neg.Cytochromoxy- dase-Reaktion	8	4	3	15
Aeromonas hydrophila (var. anaerogenes)	-	-	1	1
Alcaligenes	-	1	-	1
auf GSP-Nährboden gew. Enterobakt.	-	-	-	-
Kulturen insgesamt	38	30	30	98

Tabelle 17

Zahl der aus Luft isolierten Kulturen gramnegativer Bakterien

	Membran- Filter- methode	Sediment	Gesamtzahl
<u>Ps.aeruginosa</u>	-	1	1
<u>Ps.Fluorescens</u> (var.haem)	1	7(1)	8(1)
<u>Ps.putida</u>	1	1	2
<u>Ps.fragi</u>	-	1	1
<u>Ps.taetrolens</u>	1	-	1
<u>Ps.spec. 1</u>	-	1	1
<u>Ps.spec. 2</u>	-	-	-
<u>Ps.spec. 3</u>	1	-	1
sonst.Pseudomonaden mit pos.Cytochromoxy- dase-Reaktion	2	1	3
sonst.Pseudomonaden mit neg.Cytochromoxy- dase-Reaktion	5	6	11
auf GSP-Nährboden gew.Enterobakt.	-	1	1
Kulturen insgesamt	11	19	30

Tabelle 18

Zahl der von Fußböden und Wänden isolierten Kulturen
gramnegativer Bakterien

	Fußboden	Wand	Außenwand eines Tanks	Gesamtzahl
<u>Ps.aeruginosa</u>	1	-	1	2
<u>Ps.fluorescens</u> (var.haem.)	7(2)	2	1	10(2)
<u>Ps.putida</u>	5	1	2	8
<u>Ps.fragi</u>	1	-	-	1
<u>Ps.taetrolens</u>	2	-	-	2
sonst.Pseudomonaden mit pos.Cytochromoxy- dase-Reaktion	1	2	-	3
sonst.Pseudomonaden mit neg.Cytochromoxy- dase-Reaktion	13	4	5	22
Aeromonas hydrophila	2	-	-	2
auf GSP-Nährboden gew.Enterobakt.	-	-	-	-
Kulturen insgesamt	32	9	9	50

terien mit 13,9 %. A.hydrophila machte 7,3 % aus, Ps.putida 6,6 %, während der Anteil der übrigen Arten unter 5,0 % lag.

Bei den pasteurisierten Produkten ergibt sich eine völlig andere Zusammensetzung der am häufigsten vorkommenden Arten. Ps.aeruginosa steht mit 2,1 % an drittletzter Stelle. Besonders stark vertreten sind hier dagegen die cytochromoxydasenegativen Pseudomonaden mit 26,5 %, Ps.putida mit 18,4 %, Ps.fluorescens mit 18,0 %, Ps.spec. 1 mit 7,7 % und die Enterobakterien mit 6,4 %. Alle anderen Arten blieben unter 5 %.

Die Verteilung der Arten in der Umwelt bringt ebenfalls ein anderes Bild. Das absolut höchste Vorkommen zeigt Ps.fluorescens mit 38,0 %, gefolgt von den cytochromoxydasenegativen Pseudomonaden mit 28,4 % und Ps.putida mit 12,8 %. Alle übrigen Arten liegen deutlich unter 5,0 %. Bemerkenswert ist, daß der Anteil von Ps.aeruginosa (3,2 %) und der Anteil der Enterobakterien (0,5 %) in der Umwelt sehr gering ist. Auch der Anteil von A.hydrophila ist mit 1,6 % sehr gering.

Eine optische Verdeutlichung und Zusammenfassung der Gesamtzahlen der differenzierten Kulturen (Tabelle 12), der Kulturen aus dem Rohmaterial (Tabelle 19), den pasteurisierten Produkten (Tabelle 20) und der Umwelt (Tabelle 21) wird in der graphischen Darstellung 1 "Häufigkeitsverteilung der identifizierten Kulturen" zum Ausdruck gebracht.

Ps.aeruginosa erreicht insgesamt 8,4 %, ihr größter Anteil liegt dabei im Rohmaterial. Ps.fluorescens erreicht mit 25,9 % insgesamt den höchsten Anteil aller

Tabelle 19

Häufigkeitsverteilung der identifizierten Kulturen gramnegativer Bakterien aus Rohmilch bzw. Rohrahm

	Rohmilch	Rohrahm für Schlagsah.	Rohrahm für Butter	insgesamt	%
<u>Ps.aeruginosa</u>	15	8	13	36	23,8
<u>Ps.fluorescens</u> (var.haem.)	13(2)	10(2)	11(3)	34(7)	22,6
<u>Ps.putida</u>	4	2	4	10	6,6
<u>Ps.fragi</u>	1	1	2	4	2,7
<u>Ps.taetrolens</u>	3	1	1	5	3,3
<u>Ps.spec. 1</u>	1	-	1	2	1,3
<u>Ps.spec. 2</u>	-	-	-	-	-
<u>Ps.spec. 3</u>	1	-	1	2	1,3
sonst.Pseudomonaden mit pos.Cytochromoxy- dase-Reaktion	1	-	2	3	2,0
sonst.Pseudomonaden mit neg.Cytochromoxy- dase-Reaktion	9	7	7	23	15,2
<u>Aeromonas hydrophila</u> (var.anaerogenes)	7(1)	2	2	11	7,3
Alcaligenes	-	-	-	-	-
auf GSP-Nährboden gew.Enterobakterien	15	1	5	21	13,9
Kulturen insgesamt	70	32	49	151	100,0

Tabelle 20

Häufigkeitsverteilung der identifizierten Kulturen gramnegativer Bakterien aus pasteurisierter Milch, Schlagsahne und Butter

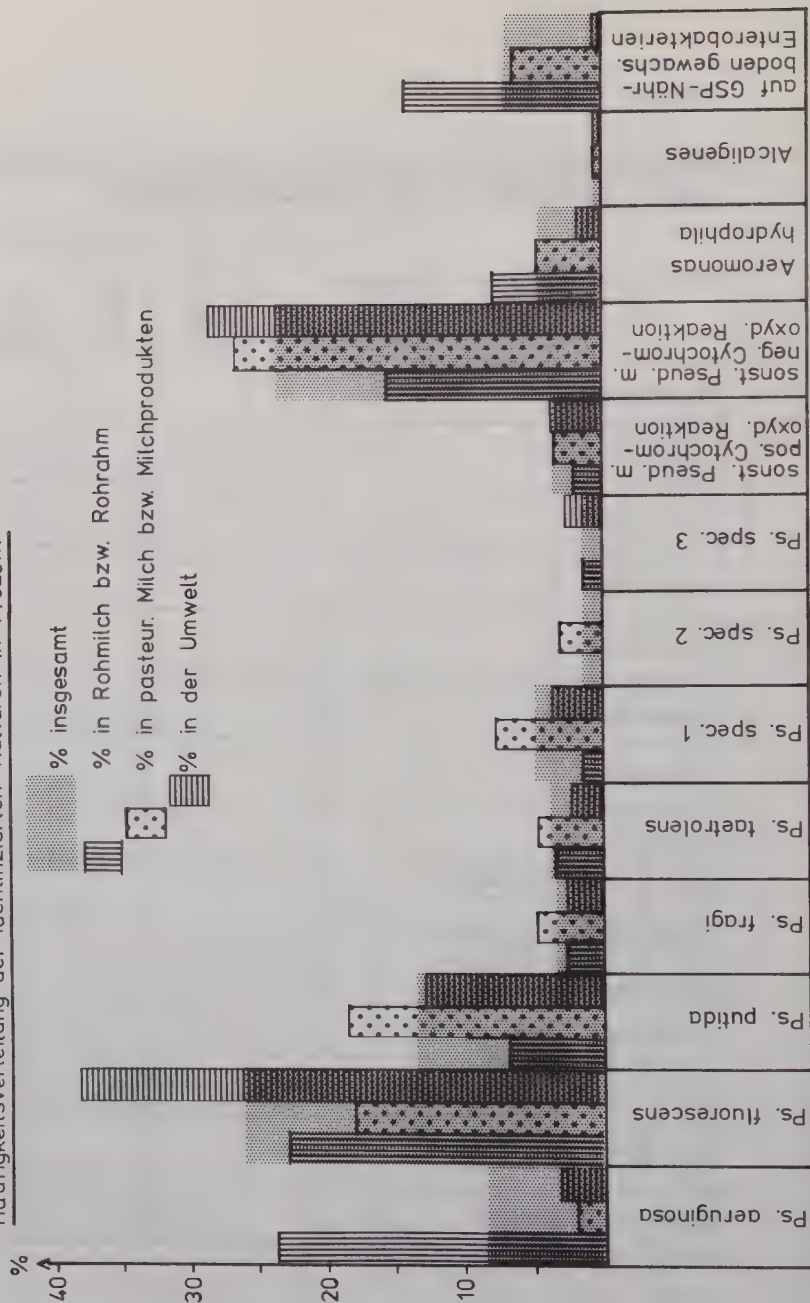
	Trinkmilch	Schlagsahne	Butter	insgesamt	%
<u>Ps.aeruginosa</u>	1	1	3	5	2,1
<u>Ps.fluorescens</u> (var.haem)	12(1)	17(2)	13	42(3)	18,0
<u>Ps.putida</u>	17	6	20	43	18,4
<u>Ps.fragi</u>	3	3	5	11	4,7
<u>Ps.taetrolens</u>	3	3	5	11	4,7
<u>Ps.spec. 1</u>	6	4	8	18	7,7
<u>Ps.spec. 2</u>	1	2	4	7	3,0
<u>Ps.spec. 3</u>	-	-	-	-	-
sonst.Pseudomonaden mit pos.Cytochromoxy- dase-Reaktion	1	1	6	8	3,4
sonst.Pseudomonaden mit neg.Cytochromoxy- dase-Reaktion	23	10	29	62	26,5
<u>Aeromonas hydrophila</u> (var.anaerogenes)	6	1	4	11	4,7
Alcaligenes	-	1	-	1	0,4
auf GSP-Nährboden gew.Enterobakterien	6	2	7	15	6,4
Kulturen insgesamt	79	51	104	234	100,0

Tabelle 21

Häufigkeitsverteilung der identifizierten Kulturen gramnegativer Bakterien aus der Umwelt der Molkereien

	Brauchwasser	Luft	Fußböden u. Wände	Packmaterial	insgesamt	%
<u>Ps.aeruginosa</u>	3	1	2	-	6	3,2
<u>Ps.fluorescens</u> (var.haem.)	52(6)	8(1)	10(2)	1	71(9)	38,0
<u>Ps.putida</u>	12	2	8	2	24	12,8
<u>Ps.fragi</u>	2	1	1	1	5	2,7
<u>Ps.taetrolens</u>	1	1	2	-	4	2,2
<u>Ps.spec. 1</u>	6	1	-	-	7	3,7
<u>Ps.spec. 2</u>	-	-	-	-	-	-
<u>Ps.spec. 3</u>	4	1	-	-	5	2,7
sonst.Pseudomonaden mit pos.Cytochromoxydase-Reaktion	1	3	3	-	7	3,7
sonst. Pseudomonaden mit neg.Cytochromoxydase-Reaktion	15	11	22	5	53	28,4
<u>Aeromonas hydrophila</u>	1	-	2	-	3	1,6
<u>Alcaligenes</u>	1	-	-	-	1	0,5
auf GSP-Nährboden gew.Enterobakterien	-	1	-	-	1	0,5
Kulturen insgesamt	98	30	50	9	187	100,0

Graphik 1
Häufigkeitsverteilung der identifizierten Kulturen in Prozent



Arten, wobei im Rohmaterial ein nur unwesentlich geringerer Anteil als in den pasteurisierten Produkten zu verzeichnen ist, während der Anteil in der Umwelt alle anderen Arten übersteigt. Bei Ps.putida liegt der Anteil insgesamt bei 13,3 %, der größte Teil stammt dabei aus den pasteurisierten Produkten. Ps.spec. 1 erreicht insgesamt einen Anteil von knapp 5 %, wobei der größte Anteil der Kulturen aus den pasteurisierten Produkten stammt. Ps.spec. 2 kommt nur in pasteurisierten Produkten vor, während Ps.spec. 3 nur in Rohmaterial und in der Umwelt vorkommt und in pasteurisierten Produkten nicht nachgewiesen wurde. Ps.fragi, Ps.taetro-
lens und die sonstigen Pseudomonaden mit positiver Cytochromoxydasereaktion waren in allen drei Untersuchungsgebieten ungefähr gleich stark vertreten und machten insgesamt weniger als 5 % aus. Die Pseudomonaden mit cytochromoxydasenegativer Reaktion fallen in der Graphik besonders auf, müssen jedoch als Gruppe mit mindestens acht Untergruppen, wie KIELWEIN ³¹ zeigt, betrachtet werden. Man kann ihren Anteil nicht direkt mit dem Anteil der einzelnen Spezies in Beziehung setzen.

Der Anteil von A.hydrophila liegt insgesamt unter 5 %; ihr größter Teil entfällt auf das Rohmaterial, während der Anteil in der Umwelt gering war.

Der Anteil des Genus Alcaligenes ist mit 0,4 % verhältnismäßig gering.

Die auf GSP-Nährboden gewachsenen Enterobakterien konnten insgesamt zu 6,6 % nachgewiesen werden. Die überwiegende Zahl konnte aus dem Rohmaterial isoliert werden.

4.4 Mögliche Kontaminationsquellen

Vergleicht man die in Rohmilch bzw. Rohrahm nachgewiesenen Bakterienarten mit den aus pasteurisierter Milch bzw. Milchprodukten isolierten Arten, so läßt sich feststellen, daß in 17 = 73,9 % der 23 Molkereien sowohl Bakterien der Rohmilchflora als auch in Rohmilch nicht nachgewiesene Bakterienarten in den pasteurisierten Produkten vorkommen. In 6 = 26,1 % der Molkereien konnten nach der Pasteurisierung keine der Bakterienarten, die aus dem Rohmaterial isoliert worden waren, in den pasteurisierten Produkten nachgewiesen werden. Dies bedeutet, daß in allen Molkereien bei der Herstellung von Trinkmilch und Milchprodukten diese Produkte mit Bakterien kontaminiert werden, die mit Sicherheit nicht aus dem Rohmaterial stammen.

Um Hinweise auf mögliche Kontaminationsquellen zu erhalten, wurde festgestellt, in wieviel Molkereien Bakterienarten der pasteurisierten Produkte gleichzeitig in Umweltstufen oder, wenn sie unmittelbar nach der Pasteurisierung gefunden wurden, ob sie im Rohmaterial der gleichen Molkerei vorkamen. In 158 Fällen konnten auf diese Weise Hinweise auf eine mögliche Kontaminationsquelle ermittelt werden. In der Tabelle 22 sind diese Fälle zusammengefaßt, wobei aufgezeigt wird, mit wieviel Prozent jede Stufe als mögliche Kontaminationsquelle in Frage kommt. Wurde eine Bakterienart aus dem Rohmaterial unmittelbar nach der Pasteurisierung gefunden, so besteht die Möglichkeit, daß diese Bakterien die Pasteurisierung überlebt haben. In acht Molkereien konnte diese Möglichkeit festgestellt werden, was 5,1 % der Fälle insgesamt ausmachte. In 72 Fällen konnte eine der Umweltstufen Brauchwasser, Luft, Boden und Wände, Verpackungsmaterial und Butterwasch- bzw. Dosierwasser als mögliche Kontaminationsquelle ermittelt werden. Für 78 Fälle war weder der Nachweis

Tabelle 22

Mögliche Hinweise für Kontaminationsquellen mit Pseudomonaden nach Vergleich der in pasteurisierter Milch bzw. im Milchprodukt und in den Umweltstufen der entsprechenden Molkerei vorkommenden Pseudomonaden

Mögliche Kontaminationsquellen	Anzahl	in %
Überleben bei der Pasteurisierung	8	5,1
Brauchwasser	23	14,5
Luft	12	7,6
Boden und Wände	25	15,8
Verpackungsmaterial	5	3,2
Butterwasch- bzw. Dosierwasser	7	4,4
Molkereigeräte selbst	78	49,4
Gesamtzahl	158	100,0

der gleichen Bakterienarten in der Umweltstufe noch aus dem Rohmaterial möglich. In diesen Fällen muß also auf eine Kontamination in den Molkereigerätschaften selbst geschlossen werden. Dies bedeutet, daß mit 49,4 % die Molkereigeräte als die häufigste der möglichen Kontaminationsquellen anzusehen ist.

4.5 Besprechung der Ergebnisse

4.51 Allgemeines

Aus insgesamt 568 Stufenkontrollproben aus 23 Molkeereien im Regierungsbezirk Südwürttemberg-Hohenzollern wurden mittels GSP-Nährboden, GSPA-Nährboden, flüssigem Glutaminat-Medium und flüssigem Chinasäure-Medium insgesamt 612 Kulturen isoliert und zur weiteren Identifizierung auf Blutährböden abgeimpft und differenziert. Dabei ergab sich, daß aus verschiedenen Proben einige Bakterienarten doppelt abgeimpft waren, so daß für die weitere Auswertung schließlich 563 Kulturen verblieben.

4.52 Die Kontamination mit Pseudomonaden und Aeromonaden

Bei Rohmilch und Rohrahm gelang in allen Molkereien, also in 100 % des untersuchten Rohmaterials, der Nachweis von Pseudomonaden. Der Anteil der Aeromonaden betrug nur 7,3 %. Rein zahlenmäßig betrachtet, steht, mit Ausnahme einiger Fußböden, das Rohmaterial an der Spitze aller Keimzahlen. In 57 % der untersuchten Rohmilch wurden mehr als 10 000 Keime pro ml nachgewiesen und 38 % lagen zwischen 1 000 und 10 000 Keimen pro ml. Im Rohrahm dagegen waren die Zahlenverhältnisse in etwa umgekehrt mit ca. 60 % der Keimzahlen zwischen 1 000 und 10 000 und 40 % von über 10 000 Keimen pro ml.

Nach der Pasteurisierung war die Keimzahl in den Produkten am niedrigsten. Von Stufe zu Stufe war jedoch ein stetes Ansteigen der Pseudomonaden- und Aeromonadenzahlen abhängig von der Zahl der molkereitechnischen Gerätschaften, mit denen die Produkte in Berührung kamen, zu beobachten. Die Kontamination unmittelbar nach der Pasteurisierung schwankte zwischen 14,3 und 20,0 % und lag am Ende des Produktionsganges beim verkaufsfertigen Produkt zwischen 88,2 und 93,4 %. Die Kontamination der Produkte erfolgte kontinuierlich von Stufe zu Stufe, wobei die hervorragende Bedeutung der Abfüllanlagen, wie von THOMAS ⁶⁵, HAMOMOTO ¹⁹, ²⁰, ²¹ und OGAWA ⁴⁶, ⁴⁷ berichtet, nicht zu erkennen war. Vermutlich sind ungenügend gereinigte und schlecht entkeimte milchwirtschaftliche Gerätschaften als Hauptkontaminationsquelle (49,4 %) anzusehen. (Tabelle 22).

Ein Überleben von Pseudomonaden und Aeromonaden bei der Pasteurisierung in Molkereien kann vermutet werden (Häufigkeit etwa 5 %).

Bei der Möglichkeit der Kontamination durch Umweltfaktoren muß das Brauchwasser, einschließlich des in Tabelle 22 gesondert angeführten Dosier- bzw. Waschwassers sowie die Fußböden und Wände der Molkereien als mögliche Kontaminationsquelle zu 18,9 % bzw. 15,8 % in Betracht gezogen werden. Besonders die langen Wasserschläuche, die, wie beobachtet, häufig sehr lange in Gebrauch sind, stellen ein beträchtliches Reservoir an Keimen dar, ebenso in einigen Molkereien die Fußböden.

Die Luft, die nach ALBRECHT ¹ im Milcherzeugerbetrieb eine der bedeutendsten Kontaminationsquellen darstellt, ist in der Molkerei von untergeordneter Bedeutung. Nur 7,6 % der Möglichkeiten weisen auf die Luft als Konta-

minationsquelle hin. Auch sind die Keimzahlen, die aus der Luft ermittelt werden konnten, recht gering gegenüber anderer Umweltstufen.

Als Kontaminationsquelle mit nur 3,2 % kann dem Packmaterial nur eine geringe Bedeutung zugeordnet werden. Während THOMAS ⁶⁵ und THOMÉ und LJUNGGREN ⁶⁶ in den Milchflaschen ein großes Keimreservoir feststellten, konnte bei den vorliegenden Untersuchungen nur in geringgradigem Umfange eine Kontamination von Milch und Milchprodukten durch Einwegverpackung beobachtet werden, worauf auch die kleine Zahl der aus den Einmalpackungen und vom Butterverpackungspapier isolierten Keime hinweist.

4.53 Die Häufigkeitsverteilung der einzelnen Spezies

In allen Proben des Rohmaterials wurden Pseudomonaden nachgewiesen. Von den isolierten Kulturen waren 23,8 % Ps.aeruginosa. Da nur die Gesamtanlieferungsmilch von Molkereien untersucht wurde, können die Ergebnisse nicht ohne weiteres mit den Befunden von KIELWEIN ²⁷ und TILL ⁶⁷ verglichen werden, die in Lieferantenmilchproben in 68,4 % bzw. 66,9 % Pseudomonaden und in 6,7 % bzw. 10,3 % Ps.aeruginosa nachwiesen.

Ein Anteil an Ps.aeruginosa von 86,2 %, wie GRÜN ¹⁶ ihn nachwies, konnte nicht bestätigt werden. Trotzdem war Ps.aeruginosa im Rohmaterial mit 23,8 % die am häufigsten vorkommende Pseudomonadenart. Im pasteurisierten Produkt kam Ps.aeruginosa dagegen nur zu 2,1 % und in der Umwelt nur zu 3,2 % vor. Insgesamt konnte Ps.aeruginosa mit 8,4 % der differenzierten Arten festgestellt werden.

Ps.fluorescens war insgesamt mit 25,9 % am häufigsten vertreten; im Rohmaterial mit 22,6 %, in den pasteurisierten Produkten mit 18,0 % und in der Umwelt mit 38,0 %. Ps.putida kam insgesamt zu 13,3 % vor, im Rohmaterial mit 6,6 %, in den pasteurisierten Produkten zu 18,4 % und in der Umwelt zu 12,8 %.

Alle weiteren Pseudomonadenarten blieben jeweils insgesamt und in den einzelnen Stufen unter 5 %. Dies sind die Spezies Ps.fragi, Ps.taetrolens, Ps.spec. 1, Ps.spec. 2, Ps.spec. 3. A.hydrophila kam insgesamt zu 4,4 %, im Rohmaterial zu 7,3 %, im pasteurisierten Produkt zu 4,7 % und in der Umwelt zu 1,6 % vor.

Die auf GSP-Nährboden gewachsenen Enterobakterien hatten einen Anteil von 6,6 % insgesamt, im Rohmaterial von 13,9 %, im pasteurisierten Produkt 6,4 % und in der Umwelt nur 0,5 %.

4.54 Schlußbetrachtung

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen kann geschlossen werden:

1. Die in den untersuchten Molkereien zur Be- bzw. Verarbeitung anstehende Rohmilch bzw. Rohrahm sind in erheblichem Umfange mit Pseudomonaden einschließlich Ps.aeruginosa kontaminiert. Die Befunde geben im Hinblick auf die starke Stoffwechselaktivität der Pseudomonaden zu Bedenken Anlaß und sind als unzureichend zu bewerten, wenn man die von KIELWEIN³⁰ aufgestellten Anforderungen an Rohmilch zugrunde legt, nämlich maximal 10 000 Pseudomonaden pro ml.
2. Ein Überleben von Pseudomonaden bei der Pasteurisierung ist wahrscheinlich. Sie wird jedoch weitgehend durch die Kontamination in den nachfolgenden Stufen überdeckt.

3. Die einzelnen Arten kommen in verschiedenen Bereichen einer Molkerei in erheblich unterschiedlicher Zahl vor. Hierdurch ergeben sich Anhaltspunkte für mögliche Kontaminationsquellen.
4. Die Pseudomonadenflora in den Molkereien steht in engem Zusammenhang zur Rekontamination von pasteurisierter Milch und Milchprodukten, wobei als häufigste Kontaminationsquelle die kontaminierten milchwirtschaftlichen Gerätschaften angesehen werden müssen.

Daneben spielen als mögliche Kontaminationsquellen das Brauchwasser, die Luft sowie Fußböden und Wände eine Rolle.

Für die Milchwirtschaft sind die folgenden Empfehlungen aus den Untersuchungsergebnissen abzuleiten, um eine Kontamination von Trinkmilch und Milchprodukten weitgehend zu verhindern:

Die Reinigung und Desinfektion aller Gerätschaften muß basierend auf wissenschaftlichen Erkenntnissen verbessert werden.

Gummi- oder Kunststoffschläuche sollen häufig erneuert werden, da sie, wie von BEYTHIEN ⁶, KIELWEIN ³⁰ und TILL ⁶⁷ festgestellt wurde, eine erhebliche Kontaminationsquelle darstellen.

Die häufig zu beobachtende Methode, bei der Reinigung von Gerätschaften Maschinenteile auf dem Fußboden zu reinigen oder nach der Reinigung dort abzulegen, sollte unterbleiben, da die Fußböden in Molkereien oft erheblich mit Pseudomonaden kontaminiert sind. Außerdem sollte bei der Reinigung und Desinfektion auch den Fußböden besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden, da sie auch Ausgangspunkt einer Luftkontamination sein können.

Das Betreten von Milchtanks ohne eigens hierfür vorgesehene gereinigte und desinfizierte Gummistiefel sollte unterbleiben.

Auch aus hygienischen Gründen sollte der Einwegverpackung gegenüber der Milchflasche der Vorzug gegeben werden, da bei ihrer Verwendung eine Kontaminationsquelle für Milch und Milchprodukte weitgehend ausgeschaltet werden kann.

5.0 Z u s a m m e n f a s s u n g

In 23 Molkereien wurden Stufenkontrollen zur Untersuchung auf Pseudomonaden und Aeromonaden durchgeführt. Insgesamt wurden 568 Proben von Trinkmilch, Schlag-sahne und Butter, einschließlich der Rohware, und von den Umweltstufen Luft, Brauchwasser, Fußböden und Wände untersucht. Dabei wurden Keimzahl und Keimart ermittelt und 563 Kulturen differenziert und bestimmt.

Aus der Häufigkeit und Lokalisation der verschiedenen Pseudomonadenarten und von A.hydrophila wurde auf die Kontaminationsquellen im Molkereibereich geschlossen. Hauptquellen einer Kontamination von Milch und Milchprodukten sind unvollständig gereinigte milchwirtschaftliche Gerätschaften, deren Kontamination von Brauchwasser, Luft und insbesondere von den Fußböden ausgeht. Aus den Untersuchungsergebnissen werden Empfehlungen für die Hygiene bei der Be- und Verarbeitung von Milch und Milchprodukten in Molkereien abgeleitet.

6.0 Summary

In 23 dairies samples were stepwise taken and examined for *Pseudomonas* and *Aeromonas*. Altogether 568 samples of market milk, whipping cream and butter including the raw ware, were tested and of the environmental factors air, wash water, floors and walls. Herewith the bacterial count and bacterial species were ascertained and 563 bacterial cultures were differed and defined.

From frequency and localisation of the various species of *Pseudomonads* and *A. hydrophila* conclusions were drawn as to the contamination sources in dairies. The main source of contamination of milk products is incompletely cleaned dairy equipment, whose contamination is originating from wash water, air and floors. Basing on the results of the investigation, hygienic measures are recommended for the processing of milk and milk products in dairies.

7.0 L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. ALBRECHT, D. (1971): Untersuchungen über das Vorkommen von Pseudomonaden und Aeromonaden in Milchviehställen
Dissertation Gießen (1971)
2. BACIĆ, B. u. L.F.L. CLEGG (1967): Untersuchungen über die Ursachen bakterieller Verunreinigungen von Rohmilch
Milchwissenschaft 22, 615
3. BARTELS, H.J. (1962): Untersuchungen über das Vorkommen von Bakterien in Kreislaufwassern eines Eisenhüttenwerkes
Diss. Braunschweig
Ref. VDI Zeitschrift 104, 289
zit. nach Beythien (6)
4. BEER, H. (1963): Zur Diagnostik gramnegativer aerober Stäbchen
Path.Microbiol. 26, 607
5. BERGEY'S MANUAL (1957): of Determinative Bacteriology
by Breed, R.S., E.G.D. Murray and N.R. Smith
Seventh Edition, Baltimore 1957
6. BEYTHIEN, V. (1969): Untersuchungen über den Einfluß der Wasserversorgung auf die hygienische Beschaffenheit der Milch im Erzeugerbetrieb
Dissertation Gießen (1969)
7. CASELITZ, F.H. (1958): Zur Frage von Ps.aeruginosa und verwandten Mikroorganismen als Enteritiserreger
Zschr.Tropenmedizin 2, 269
8. CASELITZ, F.H. u. R. GÜNTHER (1960): Weitere Beiträge zum Genus Aeromonas
Zbl.Bakt. I. Orig. 178, 15
9. CASELITZ, F.H. (1966): Pseudomonas-Aeromonas und ihre humanmedizinische Bedeutung
VEB Gustav Fischer Verlag Jena 19
10. CORLEY, R.T.; H.F. LONG and B.W. HAMMER (1943): Water supplies of butter manufacturing plants
Jowa Agr.Expt. Sta. Res. Bull. 31
zit. nach KIELWEIN (30)
- 10a. DE LEY, J. (1964): Pseudomonas and related genera
Ann.rev.Microbiol. 18, 17

11. DEMETER, K.J. (1967): Bakteriologische Untersuchungsmethoden in der Milchwirtschaft
Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
12. DEUFEL, J. (1958): Zur Ökologie einiger Pseudomonas-Arten im Bodensee-Obersee
Z. Fischerei Hilfswiss. (NF) 6, 635
13. EWING, W.H.; R. HUGH and J.G. JOHNSON (1961): Studies on the Aeromonas group
U.S. Departement of Health, Education and Welfare, Publ. Hlth. Serv. Communic. Dis. Center, Atlanta, Georgia
14. FRAZIER, H. und L. RUPP (1928): J. Bact. 16, 57
zit. nach DEMETER (11)
15. GRIFFITHS, D.G. and S.B. THOMAS (1959): The bacterial content of the farm dairy equipment
J. appl. Bact. 22, 46
16. GRÜN, L. (1968): Herkunft und Wirkung von Ps. pyocyanea in der Milch
Milchwissenschaft 23, 14
17. HAAGSMA, J. u. REEREBOOM, W.J. (1965): Ps. aeruginosa als Ursache einer Enzootie in einer Nerzfarm
Tijdschr. Diergeneeskunde 90, 1093
18. HALLMANN, L. (1953): Bakteriologische Nährböden
Georg Thieme Verlag Stuttgart
19. HAMAMOTO, M.; T. HIROTA und T. KANAUCHI (1966): Microbiological studies on market milk. I. Features of deterioration and psychrophilic bacterial flora in market milk, stored at low and moderate temperatures
J. Fd. hyg. Soc. Jap. 7, 14
20. HAMAMOTO, M. und T. KANAUCHI (1966): Microbiological studies on market milk. II. Measurement of bacteria found in small numbers in UHT process
J. Fd. hyg. Soc. Jap. 7, 20
21. HAMAMOTO, M. und T. KANAUCHI (1966): Microbiological studies on market milk. III. Psychrotrophic, mesophilic and thermophilic bacterial counts in UHT sterilization and bottling process of market milk
J. Fd. hyg. Soc. Jap. 7, 409

22. HIGOSHI, H. (1964): Food hygiene studies on psychrophilic bacteria
Jap.J.Vet.Res. 12, 33
23. HUGH, R. und E. LEIFSON (1953): The taxonomic of fermentative versus oxydative metabolism of carbohydrates by various gram-negativ bacteria
J.Bact. 66, 24
24. HUNTER, C.A. u. P.R. ENSIGN (1947): An epidemie of diarrhea in a newborn nursery caused by *Pseudomonas aeruginosa*
Americ.J.of.Public Health 37, 1166
25. JESSEN, O. (1965): *Pseudomonas aeruginosa* and other green fluorescent pseudomonads
Diss. Copenhagen
26. JEZESKI, J.S. u. MACY, H. (1946): Cryophilic organisms in water and butter
J.Dairy Sci. 29, 439
27. KIELWEIN, G. (1968): Feststellung und Bewertung von Pseudomonaden in der Milch
Arch.Leb.Hyg. 19, 25
28. KIELWEIN, G.; R. GERLACH u. H. JOHNE (1969): Untersuchungen über das Vorkommen von *Aeromonas hydrophila* in Rohmilch
Arch.Leb.Hyg. 20, 34
29. KIELWEIN, G. (1969): Ein Nährboden zur selektiven Züchtung von Pseudomonaden und Aeromonaden
Arch.Leb.Hyg. 20, 131
30. KIELWEIN, G. (1970): Untersuchungen über die milchhygienische Bedeutung von Pseudomonaden und Aeromonaden
Habilitationsschrift Gießen 1970
31. KIELWEIN G. (1971): Die Isolierung und Differenzierung von Pseudomonaden aus Lebensmitteln
Arch.Leb.Hyg. 22, 29
32. KLINGE, K. (1957): Die Eigelbreaktion und die Wirkung von Mikroorganismen auf den Eigelbkomplex
Arch.Hyg. 141, 334
33. KLINGE, K. (1957): Differenzierung der im Wasser vorkommenden Arten des Genus *Pseudomonas* durch die Eigelbreaktion
Arch.Hyg. 141, 348

34. KLINGE, K. (1959): Ps.fluorescens, ein Boden- und Wasserkeim. Physiologie und Identifizierung
Arch.Mikrobiol. 33, 1
35. KNORR, HAAS u. KNORR (1956): Beobachtungen über das Versagen der biologischen Sperre bei der Entkeimung des versinkenden Wassers
Arch.Hyg. 140, 130
36. KORTH, H. (1963): Über einen chinasäurehaltigen Nährboden zur Differenzierung und Anreicherung von Ps.aeruginosa
Zbl.Bakt. I. Orig. 190, 225
37. KRASSILNIKOV, N.A. (1959): Diagnostik der Bakterien und Actinomyceten
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena
38. KUNDRAT, W. (1966): Psychrophile Bakterien in Milch und Milchprodukten
Arch.Leb.Hyg. 17, 160
39. KURZWEIL, H. (1959): Welche Pseudomonasarten sind im Trinkwasser bedenklich?
Zbl.Bakt.I. Orig. 169, 329
40. LYSENKO, O. (1961): Pseudomonas - an attempt at a general classification
J.gen.Microbiol. 25, 379
41. MAJEWSKI, T. (1964): Die Verunreinigung der Milch mit Bakterien beim mechanischen Melken
Przeglad Hodowlan 32, 32
Ref.Żbl.f.Landw. 4 - 65/o5 - o551
zit. nach KIELWEIN (30)
42. MC DONALD; R.A. u. A.F. PINHEIRO (1967): Water chlorination controls Ps.aeruginosa in a rabbitry
J.Americ.veterin.Assoc. 151, 863
43. MOSSEL, D.A.A. und INDACOCHEA, L. (1970): J.Med.Microbiol. 3
zit. nach KIELWEIN (31)
44. NIKODEMUSZ, J. (1962): Durch Ps.fluorescens verursachte Lebensmittelvergiftung Honvetorvos (Militärarzt) 14, 126
zit. nach TILL (67)
45. OGAWA, M. (1967): Source of psychrophilic bacterial flora in raw milk
Jap.J.Dairy Sci. 16, 177

46. OGAWA, M.; V.KITHARA; H. TANAKA; N. SUGAWARA; M. KONDO;
S. KOBAYASHI; T. NAKANO; T. YAMYOYA
(1968): Contamination of bottled
milk with psychrophilic bacteria
and its significance in food sani-
tation
J.Jap.vet.med.Ass. 21, 194 u. 197
47. OGAWA, M; K. TAKEMURA; Y. KITHARA; M. SUGAWARA; T. TAKA-
HASHI; M. KONDO; S. HISAI u. T. NA-
KANO (1968): Relationssship between
milk plant facilities and contami-
nation of product with psychrophilic
bacteria with special reference
to mechanical system
J.Jap.vet.med.Ass. 21, 248 u. 259
48. PARK, R.W.A. (1962): A study of certain heterophic po-
lary flagellate water bacteria:
Aeromonas, Pseudomonas and Coma-
monas
J.gen.Microbiol. 27, 121
49. PREVOT, A. R. (1961): Traité de systematique bactérienne
Dunod Paris
zit. nach TILL (67)
50. RADAELLI, G. u. E. PERINI (1960): Contributo aller studio
della mastite bovine per Ps.aeru-
ginosa
Arch.Vet.ital. 11, 273
51. ROEDER, G. u. H. CAMPHAUSEN (1953): Untersuchungen über den
Einfluß des Maschinenmelkens auf
die Qualität der Milch
Int. Dairy Congress 2, 156
52. RISTAD, O. (1965): Massenausbruch von Pneumonie in
einer Nerzfarm
Medlemsbl.norske Veterinärforen.
17, 440
53. SCHUBERT, R.H.W. (1960): Untersuchungen über die Merkmale
der Gattung Aeromonas
Zbl. Bakt. I. Orig. 180, 310
54. SCHUBERT, R.H.W. (1963): Über die Bedeutung der Aeromonaden
und der sogenannten Paracolibak-
terien für die Wasserbakteriologie
Arch.Hyg.Bakt. 147, 18
55. SCHUBERT, R.H.W. (1967): Die Systematik der Aeromonaden
Arch.Hyg.Bakt. 150, 681

56. SCHUBERT, R.H.W. (1967): The taxonomy and nomenclature of the genus *Aeromonas* Kluyver and van Niel 1936.
Part I. Suggestions on the Taxonomy and nomenclature of the aerogenic *Aeromonas* species
Int.J.Syst.Bact. 17, 23
57. SCHUBERT, R.H.W. (1967): The taxonomy and nomenclature of the genus *Aeromonas* Kluyver and van Niel 1936.
Part II. Suggestions of the Taxonomy and nomenclature of the aerogenic aeromonads
Int.J.Syst.Bact. 17, 273
58. SCHULTZE, W.D. and J.C. OLSON (1957): The distribution of psychrophilic bacteria in commercial dairy products
J.Dairy Sci. 40, 602
59. SCHULTZE, W.D. and J.C. OLSON jr. (1960): Studies of psychrophilic bacteria. I. Distribution on stored commercial dairy products
J.Dairy Sci. 43, 346
60. SIERRA, G. (1957): A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates
A.v.Leeuwnhoeck 23, 15
zit. nach KIELWEIN (30)
61. STANIER, R.Y.; H.J. PALLERONIS u. M. DOUDOROFF (1966): The aerobic pseudomonads: a taxonomic study
J.gen.Microbiol 43, 159
62. THÖRNE, H. (1966): Vorkommen von *Ps.aeruginosa* im Wasser
Tidskr.Sveriges Veterinärforb. 18, 373
Ref.Zbl.f.Landw. IV, 1744 (1967)
63. THOMAS, S.B. (1949): The types of bacteria commonly found in farm and creamery water supplies and their action on milk and milk products
J.Soc.Dairy Technol. 2, 224
zit nach Beythien
64. THOMAS, S.B.; P.H. HOBSON; P.H. KING and J.M. GRIFFITHS (1963): Psychrophilic bacteria on farm dairy equipment
Dairy Engin. 80, 290

65. THOMAS, S.B. (1966): Sources, insidence and significance of psychrophilic bacteria in milk
Milchwissenschaft 21, 270
66. THOMÉ, K.E. und B. LJUNGGREN (1957): Rep. Milk and Dairy Research. Alnap Sweden 52
67. TILL, J. (1969): Untersuchungen zum Vorkommen und zur Charakterisierung milchhygienisch bedeutungsvoller Pseudomonaden
Dissertation Gießen (1969)
68. WITTER, LLOYD D. (1961): Psychrophilic Bacteria - a Review
J.Dairy Sci. 44, 983

Besonderen Dank schulde ich Herrn Prof.Dr.G.Kielwein, Vorsteher der Abteilung Hygiene der Milch, Fische und Eier am Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Universität Gießen, für die Überlassung des Themas, die wertvollen Ratschläge und die Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Dem Vorstand des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes Aulendorf, Herrn Ob.Reg.Vet.Dir. Prof. Dr.K.Dedié danke ich für seine Anregungen und das rege Interesse an der Arbeit.

Den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der Milchabteilung des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes danke ich für die bereitwillige Hilfeleistung bei der technischen Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf

Am 8. März 1940 wurde ich als zweiter Sohn des Regierungsoberbauamtsrats Ewald Schäfer und seiner Ehefrau Margarete, geb. Meyer in Düsseldorf geboren.

Durch die Kriegseignisse mußten meine Mutter, meine beiden Brüder und ich Düsseldorf verlassen und zogen zu den Großeltern nach Forst, Krs. Altenkirchen, einem Dorf im Westerwald. Dort wurde ich im Herbst 1946 in die Volksschule eingeschult.

1948 kehrten wir nach Düsseldorf zurück. Ich besuchte dort die Volksschule und später das mathematisch-naturwissenschaftliche Leibniz-Gymnasium.

Nach meinem Abitur begann ich im Sommersemester 1963 an der Justus-Liebig-Universität in Gießen mit dem Studium der Veterinärmedizin. Im Wintersemester 1968/69 bestand ich dort die Tierärztliche Prüfung und erhielt mit Wirkung vom 5. August 1969 meine Approbation als Tierarzt.

1969 und 1970 war ich als Praxisvertreter und Assistent bei einigen praktizierenden Tierärzten in Hessen tätig.

Seit 1. Juli 1970 bin ich als Labortierarzt in der Milchabteilung des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes Aulendorf angestellt.

FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641 - 77449